

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**  
**Přírodovědecká fakulta**

**Ekologický význam biologicky aktivních látek  
produkovaných planktonními rozsivkami**

Bakalářská práce

**Markéta Machová**

Školitel: RNDr. Petr Znachor, Ph.D.

České Budějovice 2015

Machová, M., 2015: Ekologický význam biologicky aktivních látek produkovaných planktonními rozsivkami. [Ecological role of biologically active compounds produced by planktonic diatoms. Bak. Thesis, in Czech.] – 34 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Diatoms are producers of numerous secondary metabolites (e.g. polyunsaturated aldehydes) which may have various effects on aquatic organisms. This study summarizes major findings of recent research in diatom chemical ecology.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval/a samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené formě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce.

Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

České Budějovice, 8. 4. 2015

.....  
podpis

# Obsah

|  |    |
|--|----|
| 1. Úvod.....   | 4  |
| 2. Základní charakteristiky rozsivek.....                        | 5  |
| 3. Přehled sekundárních metabolitů produkovaných rozsivkami..... | 7  |
| 3.1. Isoprenoidy.....  | 7  |
| 3.2. Kyselina domoová.....                                       | 8  |
| 3.3. Polynenasycené mastné kyseliny.....                         | 9  |
| 3.4. Hydroperoxydy mastných kyselin.....                         | 10 |
| 3.5. Oxylipiny.....  | 10 |
| 3.5.1. Eikosanoidy.....  | 10 |
| 3.6. Polynenasycené aldehydy.....                                | 12 |
| 3.6.1. Syntéza a vznik.....                                      | 13 |
| 4. Polynenasycené aldehydy a jejich funkce v prostředí.....      | 14 |
| 4.1. Specifika obrany rozsivek proti konzumentům.....            | 15 |
| 4.1.2. Mechanismus působení a vliv na organismy.....             | 15 |
| 4.2. Alelopatické působení PUAs.....                             | 17 |
| 4.2.1. Mechanismy alelopatie.....                                | 17 |
| 4.2.2. PUAs jako alelopatické látky.....                         | 18 |
| 4.3. Polynenasycené aldehydy jako signální molekuly.....         | 19 |
| 4. Závěr.....  | 23 |
| 5. Reference.....  | 24 |

# 1. Úvod

Planktonní rozsivky jsou jednobuněčné řasy obývající jak sladké, tak slané vody (Allaby, 2012). Tvoří spolu s dalšími primárními producenty spodní patro potravní pyramidy a jsou zdrojem potravy pro rozličný zooplankton (Allaby, 2012). Vzájemné interakce mezi těmito producenty a konzumenty ve vodních ekosystémech jsou široce studované, ale až v posledních několika desetiletích se díky rozvoji chemické ekologie dostala na světlo nová fakta týkající se složité chemické komunikace mezi vodními organismy (Hay, 2002). Po počátečních problémech s identifikací molekul, které tyto interakce zprostředkovávají, bylo do dnešní doby u vodních producentů odhaleno mnoho biologicky aktivních látek (Hay, 2002). Jedná se o celou škálu sekundárních metabolitů, které mohou mít různé účinky na jiné jednobuněčné i vyšší organismy (Leflaive & Ten-Hage, 2009). Jako jedny z nejvýznamnějších v ekosystému se ukázaly látky ze skupiny polynenasycených aldehydů se zkratkou PUAs, které hojně produkují právě i planktonní rozsivky (Pohnert, 2005).

V roce 1999 bylo poprvé prokázáno, že tyto látky mají přímý negativní vliv na konzumenty rozsivek (hlavně skupinu Copepoda), především až na jejich další generaci než přímý okamžitý efekt na dospělé (Miralto et al., 1999; Van Donk et al., 2011). Negativní vliv těchto látek byl ale pozorován u více skupin vodních živočichů (Caldwell et al., 2002). Následný výzkum polynenasycených aldehydů se zaměřil i na další možnosti biologických interakcí, například že tyto látky mají alelopatické účinky na potenciální konkurenty rozsivek ve vodních ekosystémech (Leflaive & Ten-Hage, 2007). Nejvíce diskutovanou se však stala otázka možné chemické signalizace prostřednictvím PUAs. Tyto sekundární metabolity se totiž ukázaly jako klíčové v regulaci celé řady metabolických kaskád (Vardi et al., 2008). Poslední výzkumy poukázaly na to, že PUAs dokážou spustit proces programované buněčné smrti (PCD) u vodních jednobuněčných organismů, podobně jako tento proces známe například u metazoi (Franklin et al., 2006).

Tato práce shrnuje současné poznatky o funkci sekundárních metabolitů produkovaných rozsivkami se zaměřením na roli polynenasycených aldehydů v ekologii vodních ekosystémů.

## 2. Základní charakteristiky rozsivek

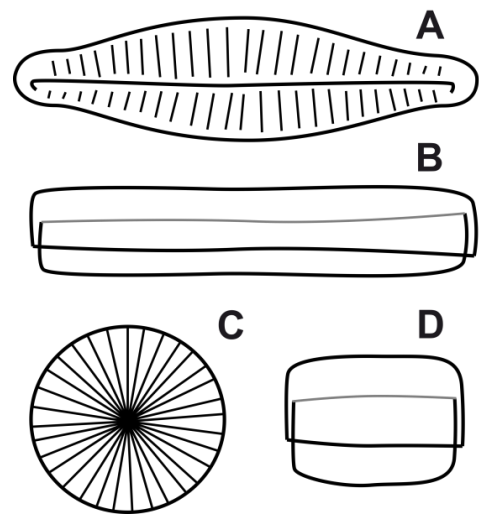
Rozsivky (Bacillariophyta, Bacillariophyceae, Diatomaceae nebo Diatoma) jsou podskupinou hnědých řas (Chromophyta). Jedná se o jednobuněčné řasy uzavřené v dvoudílné křemité schránce žijící samostatně nebo koloniálně (Desortová, 2010; Smol & Stoermer, 2010; Allaby, 2012). Podařilo se jim osídlit jak slané vody, tak i většinu vlhkých terestrických a sladkovodních biotopů, a jsou tak velice úspěšnou skupinou organismů, která se dá najít v podstatě téměř všude (Allaby, 2012). Jedná se o bohatou skupinu s více než 10 000 druhů, ale velké množství druhů nebylo doposud popsáno (Sims et al., 2006; Allaby, 2010).

Podle fosilních nálezů byly první žijící rozsivky datovány do období devonu (paleozoikum) (Kalina & Váňa, 2005), dnes však molekulární i paleontologická data řadí původ rozsivek do období jury (mezozoikum) (Rothpletz, 1896).

Rozsivky se rozdělují podle tvaru schránky na penátní (protáhlé, dvoustranně souměrné) a centrické (kruhové, paprscitě souměrné) (Rosypal et al., 1994; Allaby, 2012). Schránka rozsivek zvaná frustula (Desortová, 2010; Allaby, 2012) je dvoudílná, během života již dále neroste a je tvořena převážně polymery oxidu křemičitého (Campbell & Reece, 2006). Rozsivky jsou tudíž výrazně závislé na dostupnosti křemíku v prostředí (Desortová, 2010; Smol & Stoermer, 2010).

Jednotlivé části schránky se nazývají théky nebo valvy (horní a větší – epithéku, spodní a menší – hypothéku; Kalina & Váňa, 2005). Ty do sebe zapadají jako části Petriho misky (Hildebrand et al., 2009).

Penátní rozsivky se dále dělí podle přítomnosti švu zvaného raphe na araphidní a raphidní, které můžeme podle tvaru a počtu raphe dále rozdělit



Obr. 1: Schéma rozsvivkových schránek: penátní rozsivka z valválního(A) a bočního pohledu(B), centrická rozsivka z valválního(C) a bočního pohledu(D).

na několik skupin. Prostřednictvím raphe se do kontaktu s okolím dostává plazma buňky, která umožňuje aktivní pohyb i příjem látek z okolí (Rosypal et al., 1994). Přítomnost konkrétních druhů rozsivek často odráží specifické podmínky, ve kterých žijí, a mají tedy funkci tzv. bioindikátorů (Smol & Stoermer, 2010). Při identifikaci konkrétních taxonů rozsivek je důležitá především morfologie jejich frustuly (Desortová, 2010), která je však dobře rozpoznatelná zpravidla jen s použitím elektronové mikroskopie. Zvláštností frustuly jsou póry, které slouží ke komunikaci s okolím a výměně plynů (Campbell & Reece, 2006). Schránka plní i funkci obrannou, a pokud dochází například ke zvýšení selekčního tlaku na populaci rozsivek (větší množství predátorů v okolí apod.), schránka zvětší svou tloušťku, aby byla mechanicky odolnější vůči destrukci (Assmy et al., 2013).

Rozsivky představují cca.  $\frac{1}{4}$  primární produkce na Zemi (Nelson et al., 1995, Kalina & Váňa, 2005), a hrají tak naprosto klíčovou roli v koloběhu uhlíku (Nelson et al., 1995; Assmy et al., 2013). Fotosyntéza je realizována chlorofyly typu A a C (Allaby, 2012). Zásobní produkty ukládají v podobě polymeru chryzolaminarinu, volutinu nebo olejových kapének (Rosypal et al., 1994). Přítomnost velkého množství rozsivek v ekosystému se dá rozpoznat podle hnědého zbarvení vody, které je způsobené především pigmentem fukoxantinem, diadinoxantinem a diatoxantinem (Rosypal et al., 1994). Ve vodním prostředí se rozsivky často vyskytují jako součást planktonu (Campbell & Reece, 2006), bentosu nebo perifytonu (Rosypal, 1994; Allaby, 2012). Rozsivky jsou považovány za hojnou, dobře dostupnou a na živiny bohatou potravu pro zooplankton (Ribalet et al., 2007b). Spolu s živinami ale konzumenti přijímají i chemické látky obsažené v biomase, které mohou významně ovlivňovat metabolismus vyšších článků potravního řetězce. Mnoho z těchto chemických látek patří mezi sekundární metabolity, jejichž základní přehled je uveden v následující kapitole.

### **3. Přehled sekundárních metabolitů produkovaných rozsivkami**

Sekundární metabolity jsou rozmanité chemické látky, které se na rozdíl od primárních metabolitů přímo neúčastní nezbytně životně důležitých drah v organismu zajišťujících rozmnožování, růst a vývoj (Croteau et al., 2000). Z tohoto důvodu byly dlouhou dobu pokládány za nadbytečné produkty metabolismu bez jakékoli viditelné funkce (Bennett & Wallsgrove, 1994; Croteau et al., 2000). Některé sekundární metabolity mohou být taxonomicky specifické (Wink, 2003). Sekundární metabolity mohou dlouhodobě ovlivňovat přežívání organismu v prostředí, jsou součástí antipredačních a obranných mechanismů a aktivně se účastní nejrůznějších ekologických interakcí mezi organismy (Croteau et al., 2000; Wink, 2003).

U rozsivek byla prokázána značná rozmanitost sekundárních metabolitů, jejíž původ byl ozřejměn po osekvenování kompletního genomu druhů *Thalassiosira pseudonana* (Armbrust et al., 2004) a *Phaeodactylum tricorutum* (Bowler et al., 2008). Ukázalo se, že rozsivky mají překvapivě velký genom s množstvím sekvencí se zatím neznámou funkcí, což velice pravděpodobně souvisí s velkou diverzitou chemických látek, které produkují (Huseby et al., 2013). Různé kmeny stejného druhu rozsivek mohou také produkovat odlišné metabolity v závislosti na podmínkách prostředí, ve kterém žijí (Huseby et al., 2012). Funkce a účinky těchto látek na další organismy jsou předmětem dalšího výzkumu.

#### **3.1. Isoprenoidy**

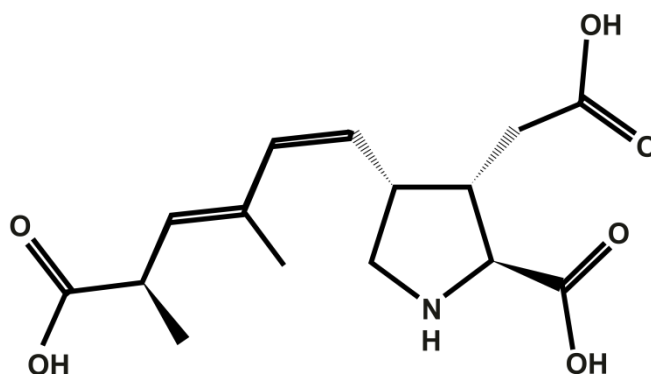
U několika druhů (rod centrických rozsivek *Rhizosolenia* a penátní rody *Haslea*, *Navicula* a *Pleurosigma*), spadajících do dvou specifických klastrů označovaných jako HBI-1 a HBI-2, byla prokázána produkce vysoce rozvětvených isoprenoidů (highly branched isoprenoid, HBI) patřících do skupiny sesterpenů a triterpenů (Damsté et al., 2004). Tvorba a uvolňování látek tohoto typu byly doposud známe především u vyšších rostlin (Sasso et al., 2012). Jejich syntéza rozsivkami je zajišťována buď terpensyntetázami nepříbuznými těm rostlinným, nebo se jedná o neenzymatickou reakci (Sasso et al., 2012). Tyto látky se nacházející v mořských sedimentech datovaných již

do doby před 91,5 miliony let (Damsté et al., 2004) a slouží jako indikátor přítomnosti rozsivek. Mezi další nalezené sekundární metabolity tohoto nebo odvozeného typu patří také podskupina isoprenoidů monoterpeny, hojně nalézané u druhů *Phaeodactylum tricornutum* a *Fragilariopsis kerguelensis* (Sasso et al., 2012).

### 3.2. Kyselina domoová

Kyselina domoová (domoic acid, DA) je heterocyklická aminokyselina s toxickými účinky produkovaná některými druhy mořských rozsivek rodu *Pseudonitzschia* a *Nitzschia* (Bates et al., 1989; Mos, 2001). Toxicita jednotlivých druhů produkujících kyselinu domoovou se může významně lišit v závislosti na oblastech

výskytu (Bates et al., 1998; Mos, 2001). Poprvé byla tato látka izolována z řasy *Chondria armata*, později byla nalezena také v dalších druzích ruduch (Bates et al., 1998; Hrdina et al., 2005).



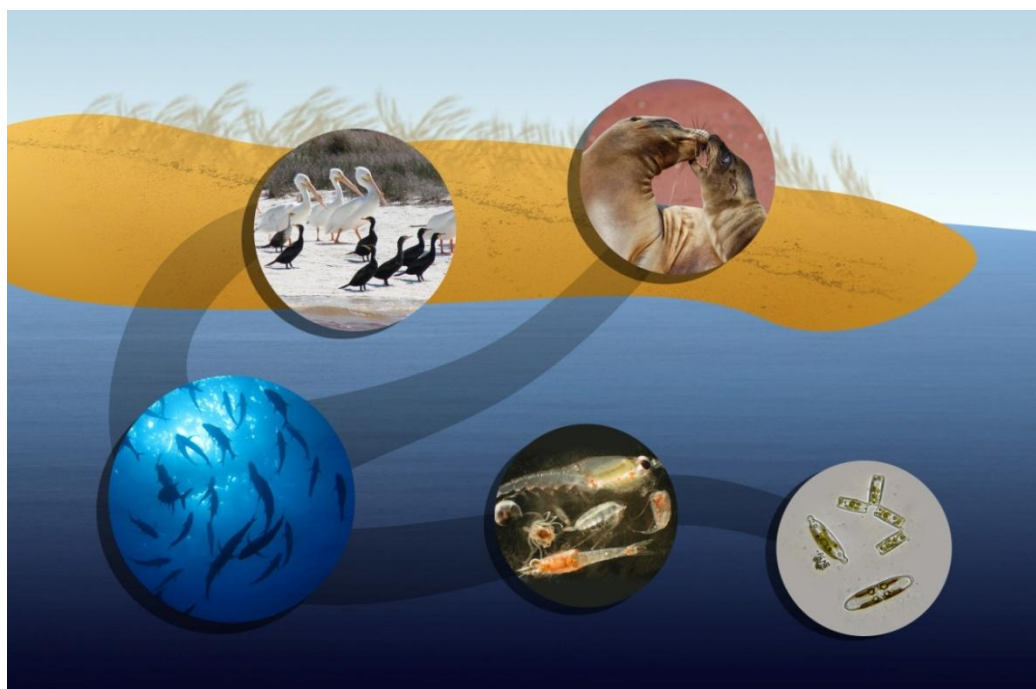
Obr. 2: Strukturální vzorec kyseliny domoové.

Ke zvýšení množství kyseliny domoové dochází společně s nárůstem pH ve vodě, což naznačuje její větší produkci během období rozsivkového vodního květu (Lundholm et al., 2004). Podle některých teorií způsobuje globální změna klimatu v některých zeměpisných šířkách prodloužení vegetační doby rozsivek, tedy i délku období, po kterou tvoří kyselinu domoovou, což zvyšuje její dopad na mořské ekosystémy (Mos, 2001).

Funkce kyseliny domoové v metabolismu rozsivek není úplně zřejmá. Některé výsledky naznačují její možný význam jako účinného chelatačního činidla při získávání železa z organických komplexů v jinak na železo chudých mořských vodách (Wells et al., 2005; Silver et al., 2010). V těle živočichů působí kyselina domoová jako silný neurotoxin díky své strukturní podobnosti s kyselinou kainovou a glutamovou, které jsou významnými neurotransmitery



(Todd, 1993). Kyselina domoová se váže na glutamátové receptory v neuronech, což se projevuje poškozením krátkodobé paměti, při větších dávkách vede otrava DA až k nenávratnému poškození mozku (Bates et al., 1998; Hrdina et al., 2005). Bioakumulace DA ve vodních potravních řetězcích může způsobovat rozsáhlé otravy mořských ptáků, například kormoránů a pelikánů (Fritz et al., 1992) nebo i lachtanů (Mos, 2001).



*Obr. 3: Schéma pohybu sekundárních metabolitů potravním řetězcem – od jeho producentů (rozsivek) až k vrcholovým predátorům.*

V roce 1987 byl zaznamenán také případ rozsáhlé otravy lidí po konzumaci kontaminovaných slávek jedlých (Todd, 1993). Ačkoli toxicita kyseliny domoové může s tepelnou úpravou mořských měkkýšů poklesnout, nelze ji zcela eliminovat (Mos, 2001). Po pozření způsobuje v lepším případě pouze zažívací potíže, v krajním vede až k úmrtí postižených osob. Zasažení centrálního nervového systému způsobuje křeče, kóma, stavy zmatení, dezorientaci a také vede ke ztrátě paměti (Bates et al., 1989; Todd, 1993; Hrdina et al., 2005).

### **3.3. Polynenasycené mastné kyseliny**

Polynenasycené nebo polynesaturované mastné kyseliny (PUFAs) tvoří společně s některými alkoholy lipidy (Arts et al., 2009). Jedná se o mastné

kyseliny se dvěma či více dvojnými vazbami v dlouhém uhlíkovém řetězci (14–22 uhlíků; Yokoyama, 2007; Grofová, 2010). Tyto látky jsou uvolňovány do prostředí některými druhy rozsivek při jejich spásání jako následek porušení buněčné stěny a mohou působit toxicky například na planktonní korýše (Jüttner, 2001). Obvykle se ale volně nevyskytují, neboť slouží u řas především jako prekurzory pro mnoho dalších chemických látek jako fosfoglyceridy a triacylglyceroly (Arts et al., 2009).

### **3.4. Hydroperoxydy mastných kyselin**

Hydroperoxydy mastných kyselin jsou primárními produkty lipoxygenázové aktivity a obdobně jako jiné podobné látky se objevují ve chvíli, kdy dochází k narušení buněčné membrány, například při konzumaci rozsivek predátory. U naupliových stádií korýšů způsobují vývojové vady a apoptózu buněk (Cutignano et al., 2011).

### **3.5. Oxylipiny**

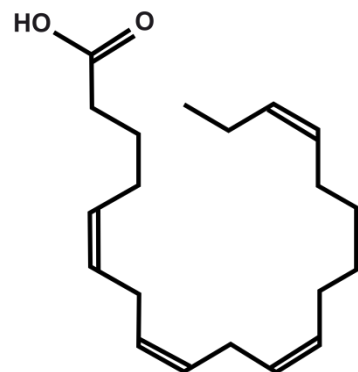
Oxylipiny vznikají jako produkty rozkladu mastných kyselin enzymem lipoxygenázou (Fink et al., 2006). Tento enzym obsahující železo zajišťuje chod různých metabolických drah a je jedním z nejprostudovanějších a nejrozšířenějších enzymů rostlinné i živočišné říše (Baysal & Demirdöven, 2007).

#### **3.5.1. Eikosanoidy**

Eikosanoidy jsou rychle degradující kyslíkaté deriváty dvacetihlíkatých esenciálních mastných kyselin typu omega-3 i omega-6 (Jiráček & Zeman, 2007), mezi které patří i prostanoidy a leukotrieny (Wen & Chen, 2003). Eikosanoidy obecně působí ve složitých a dlouhých metabolických drahách organismů jako buněčné signální molekuly ovlivňující receptory spřažené s G-proteiny (Wen & Chen, 2003; Jiráček & Zeman, 2007; Vrablík, 2007). Hrají roli hlavně při zánětlivých mechanismech (jsou i součástí mastocytů a leukocytů), a jsou tak zkoumány pro potenciálně léčivé účinky uplatnitelné v humánní medicíně (Jiráček & Zeman, 2007; Vrablík, 2007; Végh, 2008).

### 3.5.1.1. Kyselina eikosapentaenová

Kyselina eikosapentaenová (eikosapentoic acid, EPA) je derivátem mastných kyselin typu omega-3 (Végh, 2008) se vzorcem: omega-3 20:5 (Yokoyama, 2007). Významnými producenty EPA jsou zástupci rodu *Nitzschia*, především *N. alba* a *N. laevis* (Wen & Chen, 2003). Její produkce je závislá na rychlosti růstu a množství jedinců vodního květu (Wen et al., 2002). Kromě rozsivek ji tvoří i další mořské řasy ze skupin Chlorophyceae, Chrysophyceae, Cryptophyceae, Eustigmatophyceae a Prasinophyceae (Wen & Chen, 2003).



Obr. 4: Chemická struktura

Samotná EPA se ve většině výzkumů *kyseliny eikosapentaové (EPA)*. ukazuje jako netoxická pro mořské organismy, některé studie ale uvádí negativní nebo pozitivní vliv na některé druhy (Leflaive & Ten-Hage, 2009). U druhu skupiny Anostraca, konkrétně druhu *Thamnocephalus platyurus* byly pozorovány toxické účinky kyseliny eikosapentaenové uvolněné z rozsivkového biofilmu (Jüttner, 2001). Naopak u některých druhů perlooček nebo vířníků EPA podporuje růst, například u rodu *Daphnia* nebo *Keratella* (Ikawa, 2004).

### 3.5.1.2. Kyselina dokosahexaenová

Kyselina dokosahexaenová (DHA, vzorec omega-3 22:6; Wen et al., 2002) hraje stejně jako kyselina eikosapentaenová důležitou roli v nervové soustavě živočichů (Behrens & Kyle, 1996). Je produkována nejen některými druhy rozsivek (*Skeletonema costatum*), ale i zástupci obrněnek nebo haptofyt (Sijtsma & de Swaaf, 2004).

### 3.5.1.3. Bacillariolidy

Jedná se o speciální typy dvacetihlúkatých eikosanoidů, vyskytujících se ve třech typech – bacillariolid 1-3 (Sinha et al., 2005). Typ 1 funguje jako inhibitor fosfolipázy A2, která je enzymem metabolické přeměny lipidů na leukotrieny a prostaglandiny, což jej řadí mezi látky perspektivní ve vývoji protizánětlivých léčiv (Cutignano et al., 2011). Bacillariolidy 1 a 2 byly

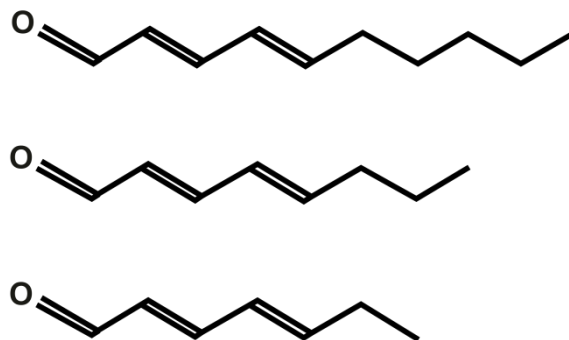
izolovány z rozsivky *Pseudonitzscha multiseriis*, typ 3 se našel v jejím kultivačním médiu a soudí se, že jde o produkt oxidace postranního uhlíkatého řetězce předchozích typů (Seo et al., 2004; Sinha et al., 2005; Cutignano et al., 2011).

Kromě výše uvedených druhů oxylipinů vylučují rozsivky i mnoho jejich derivátů. Jako například od kyseliny eikosapentaenové odvozené feromony fucoserraten, vylučovaný sladkovodní rozsivkou *Astrionella formosa* (Hombeck & Boland, 1998), nebo hormosiren a dictyopteren vylučovaný druhem *Gomphonema parvulum* (Pohnert & Boland, 1996).

### 3.6. Polynenasycené aldehydy

Polynenasycené nebo nenasycené aldehydy (polyunsaturated aldehydes, PUAs) se řadí mezi oxylipiny (Hansen et al., 2004). Patří mezi skupinu sekundárních metabolitů objevených jak u sladkovodních, tak mořských rozsivek (Bacellar Mendes & Vermelho, 2013). Jedná se o vysoce reaktivní elektrofilní chemické sloučeniny, které dělíme na  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  a  $\delta$  aldehydy (Hansen et al., 2004).

Jednotlivé druhy rozsivek produkují celé spektrum těchto chemických látek lišících se počtem uhlíků, některé pouze jeden typ případně více typů v různých poměrech (Wichard et al., 2005). Významnými zástupci těchto látek jsou 2-cis,4-cis/trans-dekadienal a 2-cis,4-cis/trans,7-trans-dekatrienal izolované například z druhu *Thalassiosira rotula* (Taylor et al., 2005). Mořský druh rozsivky *Skeletonema marinoi* tvoří i krátké sedmiuhlíkaté aldehydicke řetězce, konkrétně 2-cis-4-trans-heptadienal, a osmiuhlíkaté aldehydy jako 2-cis-4-trans-oktadienal a 2-cis-4-trans,7-trans-oktatrienal (Pohnert, 2005; Ribalet et al., 2007b).



Obr. 5: Chemická struktura (odshora) 2-cis-4-cis-dekadienal, 2-cis-4-cis-oktadienal, 2-cis-4-cis-heptadienal.

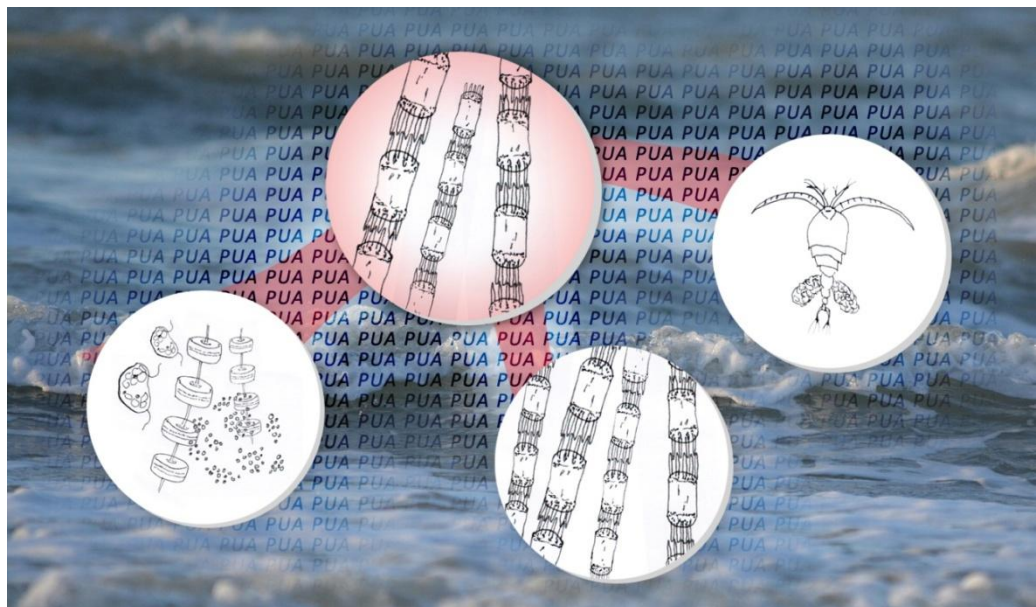
### 3.6.1. Syntéza a vznik

PUAs nejsou syntetizovány přímo v buňkách, objevují se až po narušení buněčné stěny – jejich prekurzory pochází z fosfolipidů plazmatické membrány nebo glykolipidů na membráně chloroplastu (Vardi et al., 2008). Vznikají oxidací nenasycených mastných kyselin (Pohnert et al., 2002; Hansen et al., 2004; Arts et al., 2009) na meziprodukty, kterými jsou kyseliny eikosapentaenová a arachidonová, jež dále reagují (Ribalet et al., 2007b). Jedná se o konečné produkty hydroperoxidázové aktivity (Taylor et al., 2005), především fosfolipázy A2 a lipoxygenázy (Pohnert & Boland, 2002).

V letním a podzimním období jsou PUAs produkovány především v pozdních stádiích vývoje vodního květu, zatímco na jaře spíše v iniciální fázi (Ianora & Miralto, 2010). Jejich produkce se také nápadně zvyšuje v podmínkách s nedostatkem fosforu a dusíku (Ianora & Miralto, 2010). Není zcela jasné, zdali mohou PUAs tvořit za pomoci enzymů i jiné organismy, které by pouze rozkládaly látky uvolněné buněčnou lyzí rozsivek do vodního prostředí (Ribalet et al., 2014). V závěrečné kapitole se budu zabývat pouze ekologickými a metabolickými rolemi PUAs, které patří mezi jedny z nejprozkoumanějších metabolitů produkovaných rozsivkami.

## 4. Polynenasycené aldehydy a jejich funkce v prostředí

V klasických učebnicích ekologie fytoplanktonu jsou rozsivky tradičně považovány za nutričně bohatý zdroj potravy pro zooplankton (Reynolds, 2007). Postupem času se však ukázalo, že navzdory své nutriční hodnotě, konzumace rozsivek herbivory vede často ke snížení plodnosti a špatné životaschopnosti následujících generací planktonních korýšů. Tento fenomén byl popsán jako „paradox of diatom-copepod interactions“ v pelagických planktonních sítích (Ban et al., 1997). Příčinou tohoto paradoxu, kdy není ovlivněna vlastní populace herbivorů ale až jejich následná generace, jsou právě polynenasycené aldehydy (Leflaive & Ten-Hage, 2009). Tento typ chemické obrany je u jednobuněčných řas zcela unikátním případem biologické interakce s mnoha důsledky pro fungování celého ekosystému. Produkce PUAs snižuje ve své podstatě predanční tlak a umožňuje populacím rozsivek přetrvat v planktonu, ačkoli za normálních podmínek by byly nahrazeny jinými skupinami fytoplanktonu odolnými vůči predaci (Ianora & Miralto, 2010). Kromě výše popsané unikátní funkce obrany proti predátorům mohou PUA plnit i některé další funkce, které budou diskutovány níže.



Obr. 6: PUAs produkující rozsivky (zde jako zdroj PUAs *Skeletonema marinoi*) působí v ekosystému jak na zástupce svého druhu, tak i na ostatní autotrofy a heterotrofy (především své konzumenty, například klanonožce).

## 4.1. Specifika obrany rozsivek proti konzumentům

Ačkoli dnes již víme, že PUAs mají prokazatelný vliv na vodní organismy, nedá se vždy mluvit o zcela jednoznačné odezvě na jejich přítomnost, neboť odpověď na vystavení PUAs se liší v závislosti jak na druhu organismu (Jüttner et al., 2010), tak velikosti dávky PUAs, jaké je vystaven (Taylor et al., 2007; Marrone et al., 2012). Mluvíme tak o reakcích druhově specifických, které jsou zároveň závislé na množství látky (Marrone et al., 2012).

Některé organismy mohou reagovat i na relativně malé koncentrace PUAs v okolí zatímco u jiných je zapotřebí k vyvolání reakce mnohem větší množství, někdy překračující reálné koncentrace nalézané v přírodních podmínkách (Ribalet et al., 2007a). Polynesaturované aldehydy vyvolávají rozdílnou odpověď také v závislosti na své chemické struktuře, obecně se považuje za nejtoxičtější 2-trans-4-trans-dekadienal (Taylor et al., 2005). Výsledný účinek vždy závisí i na senzivitě daného organismu a jeho schopnosti detoxifikovat danou látku. U klanonožců byla prokázána účinná detoxifikace prostřednictvím glutathion reduktázy, která udržuje hladinu antioxidantu glutathionu snižujícího oxidativní stres vzniklý působením PUAs (Seo et al., 2006).

### 4.1.2. Mechanismus působení a vliv na organismy

Polynesaturované aldehydy se vyznačují širokým spektrem negativních účinků, které se týkají především rozmnožování vodních organismů v různých fázích životního cyklu (vajíčka, larvální stádia i dospělci). Na jejich účinnost může mít kromě chemické struktury vliv i řada dalších faktorů, např. přítomnost těžkých kovů v okolním prostředí (Taylor et al., 2005). Vliv PUAs na organismy je ovlivněn jejich stabilitou v prostředí, která je značně závislá na teplotě, což naznačuje rozdílný vliv PUAs v závislosti na hloubkách oceánu, zeměpisných šířkách nebo ročních obdobích (Bartual & Ortega, 2013).

Mechanismus působení PUAs byl pak dobře popsán na druhu ježovky *Paracentrotus lividus* – spočívá v zastavení buněčného dělení, kdy aldehydy depolymerizují mikrotubuly, a neumožňují tak tubulinu uspořádání do vláken, přičemž výsledný efekt velice připomíná působení vlivu mitotického jedu kolchicinu (Buttino et al., 1999). V buňce dochází přímo ke snížení exprese

tubulinových genů, zatímco u kontrolních vzorků bez přítomnosti PUAs se tento jev neobjevuje (Lauritano et al., 2011b). V přítomnosti aldehydu (2-trans-4-trans-dekadienal) tak nemůže u embrií ježovek dojít k replikaci DNA (Hansen et al., 2004). Kromě ostnokožců byly pozorovány poruchy v embryogenezi, při líhnutí a snížená plodnost i u mnohoštetinatců (Caldwell et al., 2002). Vliv na bakterie a viry pak není doposud zcela objasněn, pravděpodobně ale PUAs dokáží ovlivňovat skladbu a dynamiku vývoje bakteriálních společenstev (Paul et al., 2012).

#### ***4.1.2.1. Vliv PUAs na zooplankton***

V roce 1999 byly poprvé izolovány tři druhy PUAs a zároveň popsány jako chemické látky s přímým vlivem na rozmnožování klanonožců (Van Donk et al., 2011). Rozsivky běžně vytvářející mořské vodní květy způsobovaly u klanonožců až 88% neúspěch při líhnutí vajíček, zatímco v podmínkách po odeznění rozsivkového vodního květu se jednalo pouze o 10% (Miralto et al., 1999). V laboratorních podmínkách se po aplikaci PUAs u klanonožců objevovala apoptóza buněk ve zrajících oocytech i pozdějších vývojových stádiích, což způsobovalo jejich malformace s následnou předčasnou smrtí, dospělci však nebyli významně zasaženi (Leflaive & Ten-Hage, 2009). Jde tedy o specifickou strategii, kdy je toxinem negativně ovlivněna až následující generace konzumentů (Miralto et al., 1999). Na dospělé jedince klanonožců PUAs většinou toxicky nepůsobí (Miralto et al., 1999). Přesto má potrava skládající se z PUAs produkujících rozsivek inhibiční efekt na expresi genů zodpovědných za detoxifikaci organismu a odpověď na stresové faktory prostředí (Lauritano et al., 2011a; Lauritano et al., 2011b).

Interakce mezi chemickou obranou rozsivek a jejich konzumenty je však ve skutečnosti mnohem složitější. V mnoha laboratorních experimentech bylo zjištěno, že koncentrace PUAs v médiu ne vždy těsně koreluje s počtem neúspěšně vylíhnutých klanonožců (Dutz et al., 2008). Podobně neprůkazná pozorování pochází také z přímých měření v mořských ekosystémech. Zatímco někdy je negativní dopad PUAs na zooplankton vysoce průkazný, jiné studie nic podobného nedokumentují (Leflaive & Ten-Hage, 2009). Pravděpodobných příčin může být několik, např. různá účinnost jednotlivých typů PUAs (Taylor et al., 2005), druhově specifická produkce PUAs (Wichard et al., 2005) nebo



rozdílná citlivost jednotlivých populací zooplanktonu v závislosti na podmínkách prostředí či získání zvýšené odolnosti vůči PUAs díky předchozí aklimatizaci k nízkým koncentracím aldehydů (Gross, 2006).

## 4.2. Alelopatické působení PUAs

Termín alelopatie pochází z řeckého „allelo pathos“ (vzájemně škodit) a poprvé byl použit v roce 1937 (Molisch, 1937). V ekologii je tak obecně nazýván proces, kdy jedna rostlina aktivně ovlivňuje chemickou cestou jiné organismy ať už negativně, nebo pozitivně (Leflaive & Ten-Hage, 2007). V širším pojetí je alelopatie chápána jako vztah mezi organismy, kdy jeden druh produkuje chemickou látku vyvolávající negativní fyziologickou reakci u jiného druhu, často vedoucí až k jeho úplnému odstranění z ekosystému (Muller, 1969). Schopnost alelopaticky působit na jiné organismy tak představuje za určitých podmínek významnou kompetiční výhodu oproti druhům, které tuto schopnost nemají. Význam alelopatie při mezidruhových interakcích roste s nárůstem stresu (např. nedostatek živin, světla, suboptimální teplota), buď se zvyšuje produkce alelopatických látek, nebo roste senzitivita postižených organismů (Leflaive & Ten-Hage, 2007).

### 4.2.1. Mechanismy alelopatie

Alelopatickou reakci zprostředkovávají chemické látky většinou malé molekulové hmotnosti (pod 1000 Da), amfifilní či lipofilní povahy (Brönmark & Hansson, 2012). Zatím známe několik mechanismů jejich působení:

- **Inhibice fotosyntetického aparátu** – především u sinic je velice častá inhibice fotosyntetického aparátu, kdy molekuly alelopatik vstupují do buňky a působí změny na thylakoidních membránách (Leflaive & Ten-Hage, 2007), v krajním případě vedoucí až k inhibici fotosyntézy zastavením přenosu elektronů ve fotosystému II (Gleason & Baxa, 1986).
- **Inhibice extracelulárních enzymů** – dalším mechanismem je inhibice extracelulárních enzymů nutných k získávání potravy (například  $\alpha$ -glukosidáza), ale kompletní spektrum enzymů ani látka, která jejich inhibici způsobuje, zatím nebyly zjištěny (Leflaive & Ten-Hage, 2007).

- **Paralyzace buněk** – u sinice rodu *Anabeana* byla zjištěna schopnost znehybnění některých bičíkovců, což vede k jejich postupné sedimentaci a uvolnění ekologické niky (Leflaive & Ten-Hage, 2007).
- **Inhibice syntézy nukleových kyselin** – některé druhy mají také schopnost inhibovat syntézu nukleových kyselin tak, že zastaví polymerázovou aktivitu v RNA u jiných sinic, hub nebo zelených řas, což vede ke zpomalení růstu a snížení fitness postiženého organismu (Leflaive & Ten-Hage, 2007).
- **Vyvolání tvorby reaktivních forem kyslíku** – některé doposud neidentifikované sloučeniny produkované sinicemi zvyšují v cílovém organismu tvorbu kyslíkových radikálů či obecně reaktivních forem kyslíku, které mají různé cytotoxické účinky (Leflaive & Ten-Hage, 2007).

Najdeme ale i další mechanismy, jakými mohou organismy chemicky působit na své okolí. Některé druhy sinic nejspíše přes inhibici funkce ATPázy, zabraňují vstupu minerálů do rostlinného těla, nebo znemožňují rostlinám přístup k dusíku (Rice, 1979). Druh obrněnky *Peridinium aciculiferum* zase dokáže spustit lyzi buňky u některých zástupců zlativek, obrněnek a skrytěnek (Bacellar Mendes & Vermelho, 2013).

#### 4.2.2. PUAs jako alelopatické látky

Polynenasycené aldehydy jsou u rozsivek uvolňovány převážně porušením buněčné stěny. Rozsivky alelopaticky působí jak na jiné fylogenetické skupiny autotrofů (Prymnesiophyta, Chlorophyta), tak i na jiné druhy rozsivek (Yamasaki et al., 2007; Leflaive & Ten-Hage, 2011). Výsledkem působení bývá negativní dopad na další růst společenstva fytoplanktonu (Hansen & Eilertsen, 2006, Ribalet et al., 2007a; Yamasaki et al., 2007) nebo snížená schopnost tvorby biofilmu (Leflaive & Ten-Hage, 2011). Jednotlivé testované druhy fytoplanktonu vykazují značně rozdílnou míru tolerance vůči PUAs, která může záviset na faktorech prostředí a schopnosti detoxifikace daného organismu (Ribalet et al., 2007a). Zajímavostí je, že kromě rozsivek produkují PUAs také druhy z odlišných taxonomických skupin, například *Phaeocystis pouchetii* (Prymnesiophyceae; Hansen & Eilertsen, 2006; Vidoudez et al., 2011).

Mechanismy působení PUAs na úrovni buněčného metabolismu budou popsány v následující kapitole.

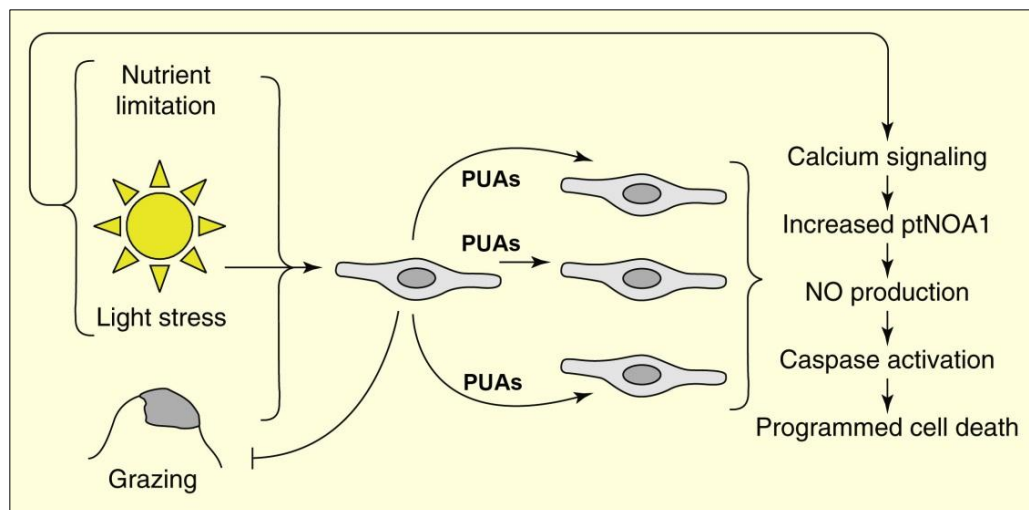
### **4.3. Polynenasycené aldehydy jako signální molekuly**

Polynenasycené aldehydy zřejmě představují signální molekuly zajišťující mezibuněčnou komunikaci. Chemická komunikace hraje důležitou roli jak u jednobuněčných, tak i mnohobuněčných organismů, kde je nutná neustálá koordinace všech buněk. Signály buňka obvykle vnímá prostřednictvím proteinových receptorů zabudovaných do plazmatické membrány (Campbell & Reece, 2006). Může ale docházet i k interakci chemické látky s iontovými kanály a jejich následnému otevření či uzavření, nebo může být látka nejprve dopravena do cytosolu buňky, kde se váže na vnitrobuněčné receptory (Campbell & Reece, 2006).

V roce 2006 byly poprvé popsány metabolické dráhy popisující působení PUAs uvnitř buněk rozsivek (Vardi et al., 2006). Signál zprostředkovaný PUAs vede přes kalcium-dependentní NO syntázy ke zvýšené tvorbě oxidu dusnatého a následné naprogramované buněčné smrti (programmed cell death, PCD). Metabolické dráhy řízené tvorbou NO byly později nalezené také v dalších vodních organismech a pravděpodobně se tedy jedná o široce rozšířený regulační mechanismus významně ovlivňující život v oceánech (Vardi, 2008). Následné studie odhalily, že PUAs spouštějí expresi genu pro PtNOA1 (nitric oxide-associated protein) a zvýšená tvorba NO způsobuje expresi metakaspáz, což jsou enzymy spojené s PCD (Vardi, 2008). Exprimování PtNOA vede u buňky ke zvýšené citlivosti na PUAs, což způsobí, že buňka reaguje „buněčnou sebevraždou“ i na velice nízké koncentrace, které v běžném stavu nevyvolávají žádnou buněčnou odezvu (Vardi et al., 2008). Přítomnost PtNOA byla prokázána v membránách v chloroplastu, tudíž prvním příznakem buněčné smrti bývá výrazný pokles fotosyntetické aktivity (Vardi et al., 2008).

Tento způsob metabolické regulace, spouštějící procesy nevratně vedoucí k naprogramované buněčné smrti, nutně vede k otázce, jaký je ekologický význam buněčné smrti. Zatímco u metazoi je mechanismus PCD popsán relativně dobře, u jednobuněčných řas zatím nejsme schopni ani přesně stanovit, jak moc je rozšířen, byl už ale prokázán u skupin Cyanobacteria, Chlorophyta a Dinoflagellata (Frankin et al., 2006). PCD u jednobuněčných řas

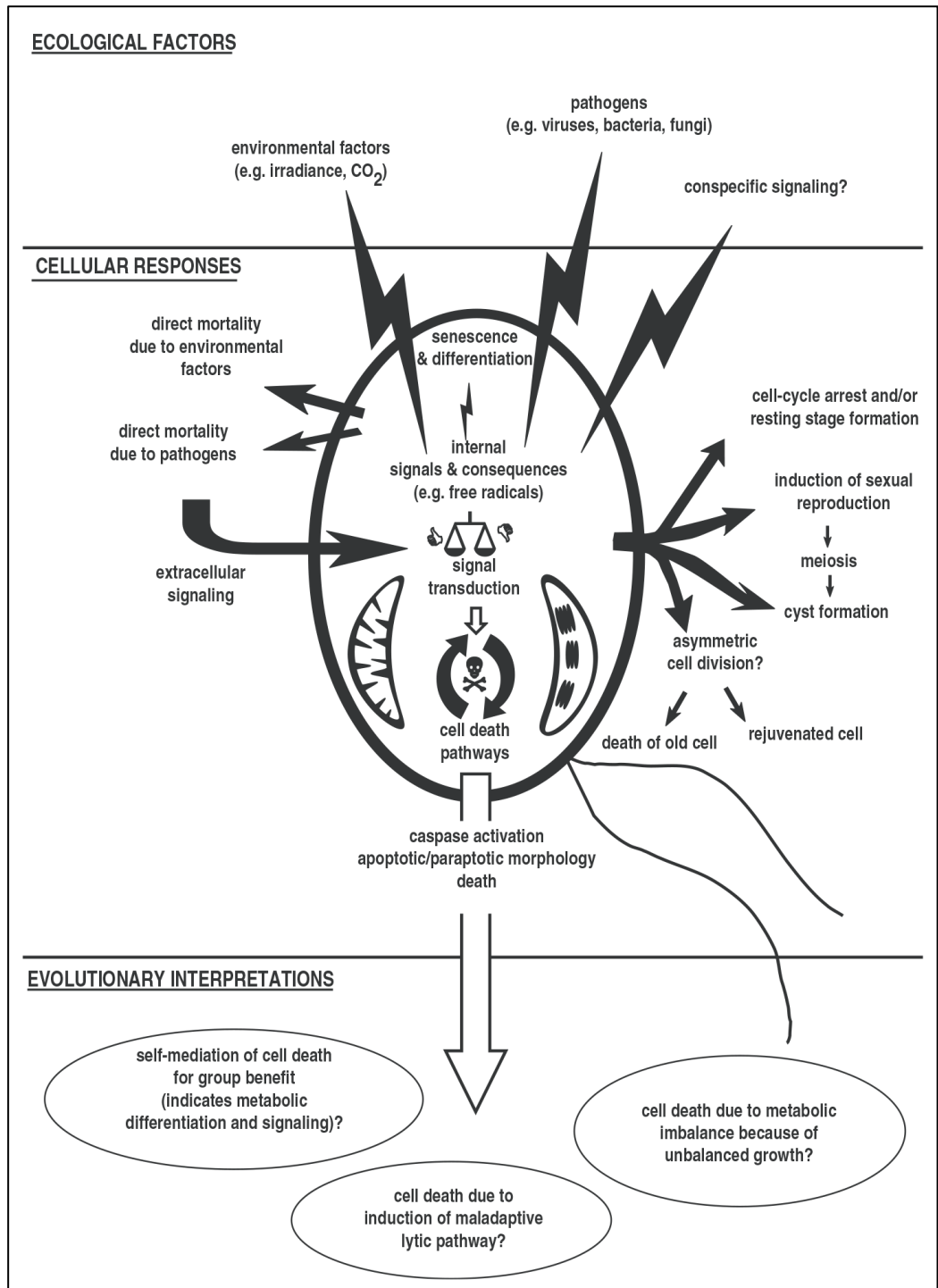
by mohla fungovat jako určitý způsob kooperace mezi populacemi a jedinci v závislosti na měnících se podmínkách prostředí, pravděpodobně ale PCD funguje u různých skupin řas trochu odlišným způsobem, a tak není možné její ekologický význam zcela generalizovat (Frankin et al., 2006).



Obr. 7: Zjednodušené schéma chemické signalizace a programované buněčné smrti u rozsivek. Stresové podmínky (limitace živinami, nedostatek světla, predace) vedou k uvolňování PUAs, které jsou zachyceny ostatními jedinci a spouští u nich kaskádu dějů spojených s produkcí NO vedoucí až k programované buněčné smrti (upraveno podle Brownlee, 2008).

Polynenasurované aldehydy se v prostředí neakumulují, ale jsou postupně degradovány, a tudíž jejich signální funkce trvá pouze po omezenou dobu (Leflaive & Ten-Hage, 2009). Doposud zůstává nezodpovězenou otázkou, zdali a v jaké míře jsou PUAs aktivně vylučovány do prostředí, nebo vznikají pouze při narušení buněčné membrány rozkladem polynenasycených mastných kyselin. Teprve nedávno bylo pozorováno uvolňování malého množství PUAs u mořského druhu *Skeletonema marinoi*, aniž by došlo k mechanickému poškození buněk (Vidoudez & Pohnert, 2008). Uvolňování PUAs do prostředí pravděpodobně také závisí na určitých fázích růstu populace rozsivek (Barofsky et al., 2010). Vzhledem k nízkým koncentracím těchto látek je však možné, že současné analytické metody neumožňují přesné stanovení PUAs a výrazného pokroku se dočkáme teprve s rozvojem citlivějších chemických metod stanovení. Hlavním mechanismem, jakým se PUAs dostávají do prostředí, je predace zooplanktonem, při které dochází k mechanickému porušení integrity

buněk (Vardi et al., 2006). V tomto případě se jedná o jasný signál, jak informovat okolní buňky o napadení predátorem, případně i o jiném stresovém faktoru v prostředí jako například limitace živinami, virová lyze apod. (Ribalet et al., 2007b; Leflaive & Ten-Hage, 2009).



Obr. 8: Schéma zobrazující zapojení PCD do životního cyklu jednobuněčných řas a možná vysvětlení jeho významu (upraveno podle Franklin et al., 2006).

Metabolická odpověď rozsivek se pak liší v závislosti na koncentraci PUAs. Pokud jsou rozsivky postupně vystaveny nízkým dávkám, jsou schopné se adaptovat a za normálních podmínek letální koncentrace PUAs ztrácí fatální účinek na populaci (Gross, 2006). Zatímco pokud je stejná dávka podána bez předchozí aklimatizace, indukovaná mortalita buněk je podstatně vyšší (Gross, 2006). Reakce dalších mořských organismů na vystavení PUAs je různá a to jak u řas, tak i u různých testovaných skupin bezobratlých, kdy někteří je vnímají jako atraktanty, zatímco jiní jsou jimi odpuzováni (Jüttner et al., 2010). Zdá se tedy, že existuje velká mezidruhová variabilita odpovědí na tyto látky v závislosti na mnoha faktorech, z nich některé nebyly doposud spolehlivě určeny.

## 4. Závěr

Polynenasycené aldehydy představují zajímavou skupinu sekundárních metabolitů s celou řadou funkcí. Ačkoli je funkce polynenasycených aldehydů v prostředí zkoumána již řadu let, stále nebyly zcela objasněny všechny metabolické kaskády a regulační mechanismy určující jejich syntézu, účinky na organismy a z nich vyplývající typy ekologických interakcí. PUAs mají prokazatelný teratogenní účinek na následnou generaci zooplanktonu živícího se rozsivkami, aniž by přímo ovlivňovaly generaci samotných konzumentů. Pravděpodobně také slouží jako alelopatické a signální molekuly schopné indukovat naprogramovanou buněčnou smrt prostřednictvím metabolických drah zahrnujících tvorbu oxidu dusnatého. Je zřejmé, že PUAs jsou součástí velice komplikovaných mechanismů, které utvářejí složení potravních sítí v mořských ekosystémech. Další rozvoj chemické ekologie a molekulárně genetických metod nám v budoucnu poskytne zřejmě mnohá překvapení v porozumnění složitosti potravních vztahů a přinese mnohem ucelenější náhled na mořské ekosystémy.

## 5. Reference

Allaby, M. (2012). *A Dictionary of Plant Sciences*. Třetí vydání. Oxford University Press.

Allaby, M. (2010). *A Dictionary of Ecology*. Čtvrté vydání. Oxford university Press.

Armbrust, E. V., Berges, J. A., Bowler, C., Green, B. R., Martinez, D., Putnam, N. H., Zhou, S., Allen, A. E., Apt, K. E., Bechner, M., Brzezinski, M. A., Chaal, B. K., Chiovitti, A., Davis, A. K., Demarest, M. S., Detter, J. C., Glavina, T., Goodstein, D., Hadi, M. Z., Hellsten, U., Hildebrand, M., Jenkins, B. D., Jurka, J., Kapitonov, V. V., Kröger, N., Lau, W. W. Y., Lane, T. W., Larimer, F. W., Lippmeier, J. C., Lucas, S., Medina, M., Montsant, A., Obornik, M., Schnitzler Parker, M., Palenik, B., Pazour, G. J., Richardson, P. M., Rynearson, T. A., Saito, M. A., Schwartz, D. C., Thamtracoln, K., Valentin, K., Vardi, A., Wilkerson, F. P. & Rokhsar, D. S. (2004). The Genome of the Diatom *Thalassiosira Pseudonana*: Ecology, Evolution, and Metabolism. *Science* 306 (5693), 79-86.

Arts, M. T., Brett, M. T. & Kainz, M. (2009). *Lipids in Aquatic Ecosystems*. Springer.

Assmy, P., Smetáček, V., Montresor, M., Klaas, C., Henjes, J., Strass, V. H., Arrieta, J. M., Bathmann, U., Berg, G. M., Breitbarth, E., Cisewski, B., Friedrichs, L., Fuchs, N., Herndl, G. J., Jansen, S., Kragefsky, S., Latasa, M., Peeken, I., Rottgers, R., Scharek, R., Schuller, S. E., Steigenberger, S., Webb, A. & Wolf-Gladrow, D. (2013). Thick-shelled, grazer-protected diatoms decouple ocean carbon and silicon cycles in the iron-limited Antarctic Circumpolar Current. *Proceeding of The National Academy of Science*, 110(51), 20633-20638.

Bacellar Mendes, L. B. & Vermelho, A. B. (2013). Allelopathy as a potential strategy to improvemicroalgae cultivation. *Biotechnology for Biofuels*, 6, 152.

Ban, S., Burns, C., Castel, J., Chaudron, Y., Christou, E., Escribano, R., Umani, S. F., Gasparini, S., Ruiz, F. G., Hoffmeyer, M., Ianora, A., Kang, H. K., Laabir, M., Lacoste, A., Miralto, A., Ning, X., Poulet, S., Rodriguez, V.,



Runge, J., Shi, J., Starr, M., Uye, S. & Wang, Y. (1997). The paradox of diatom-copepod interactions. *Marine Ecology Progress Series*, 157, 287-293.

Barofsky, A., Simonelli, P., Vidoudez, C., Troedsson, C., Nejstgaard, J. C., Jakobsen, H. H. & Pohnert, G. (2010). Growth phase of the diatom *Skeletonema marinoi* influences the metabolic profile of the cells and the selective feeding of the copepod *Calanus* spp. *Journal of Plankton Research*, 32(3), 263-272.

Bartual, A. & Ortega, M. J. (2013). Temperature differentially affects the persistence of polyunsaturated aldehydes in seawater. *Environmental Chemistry*, 10(5), 403-408.

Bates, S. S., Bird, C. J., de Freitas, A. S. W., Foxall, R., Gilgan, M., Hanic, L. A., Johnson, G. R., McCulloch, A. W., Odense, P., Pocklington, R., Quilliam, M. A., Sim, P. G., Smith, J. C., Subba Rao, D. V., Todd, E. C. D., Walter, J. A. & Wright, J. L. C. (1989). Pennate Diatom *Nitzschia pungens* as the Primary Source of Domoic Acid, a Toxin in Shellfish from Eastern Prince Edward Island, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46(7), 1203-1215.

Bates, S. S., Garisson, D. L. & Horner, R. A. (1998). Bloom dynamics and physiology of domoic-acid-producing *Pseudo-nitzschia* species. In: Anderson, D. M., Cembella, A. D. & Hallegraeff, G. M. (1998). *Physiological ecology of harmful algal blooms*, 267-292. Heidelberg: Springer-Verlag.

Baysal, T. & Demirdöven, A. (2007). Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(4), 491-496.

Behrens, P. W. & Kyle, D. J. (1996). Microalgae as a source of fatty acids. *Journal of Food Lipids*, 3(4), 259-272.

Bennett, R. N. & Wallsgrave, R. M. (1994). Tansley Review No. 72: Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist*, 127, 617-633.

Bowler, C., Allen, A. E., Badger, J. H., Grimwood, J., Jabbari, K., Kuo, A., Maheswari, U., Martens, C., Maumus, F., Otillar, R. P., Rayko, E., Salamov, A., Vandepoele, K., Beszteri, B., Gruber, A., Heijde, M., Katinka, M., Mock, T., Valentin, K., Verret, F., Berges, J. A., Brownlee, C., Cadoret, J., Chiovitti,

A., Choi, C. J., Coesel, S., De Martino, A., Detter, J. C., Durkin, C., Falciatore, A., Fournet, J., Haruta, M., Huysman, M. J. J., Jenkins, B. D., Jiroutova, K., Jorgensen, R. E., Joubert, Y., Kaplan, A., Kröger, N., Kroth, P. G., La Roche, J., Lindquist, E., Lommer, M., Martin-Jézéquel, V., Lopez, P. J., Lucas, S., Mangogna, M., McGinnis, K., Medlin, L. K., Montsant, A., Oudot-Le Secq, M., Napoli, C., Obornik, M., Schnitzler Parker, M., Petit, J., Porcel, B. M., Poulsen, N., Robison, M., Rychlewski, L., Rynearson, T. A., Schmutz, J., Shapiro, H., Siaux, M., Stanley, M., Sussman, M. R., Taylor, A. R., Vardi, A., von Dassow, P., Vyverman, P., Willis, A., Wyrwicz, L. C., Rokhsar, D. S., Weissenbach, J., Armbrust, E. V., Green, B. R., Van de Peer, Y. & Grigoriev, I. V. (2008). The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes. *Nature*, 456, 239-244.

Brönmark, C. & Hansson, L. (2012). *Chemical Ecology in Aquatic Systems*. Oxford University Press.

Buttino, I., Miralto, A., Ianora, A., Romano, G. & Poulet, S. A. (1999). Water-soluble extracts of the diatom *Thalassiosira rotula* induce aberrations in embryonic tubulin organisation of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Marine Biology*, 134(1), 147-154.

Caldwell, G. S., Olive, P. J. W. & Bentley, M. G. (2002). Inhibition of embryonic development and fertilization in broadcast spawning marine invertebrates by water soluble diatom extracts and the diatom toxin 2-trans-4-trans-decadienal. *Aquatic Toxicology*, 60, 123-137.

Campbell, N. A. & Reece, J. B. (2006). *Biologie*. První vydání. Brno: Computer press.

Croteau, R., Kutchan, T. M. & Lewis, N. G. (2000). *Natural Products (Secondary Metabolites)*, in *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* (eds B. Buchanan, W. Gruissem and R. Jones). Rockville: American Society of Plant Physiologists.

Cutignano, A., Lamari, N., d'Ippolito, G., Manzo, E., Cimino, G. & Fontana, A. (2011). Lipxygenase products in marine diatoms: a concise analytical method to explore the functional potential of oxylipins. *Journal of Phycology*, 47(2), 233–243.

Damsté, J. S. S., Muyzer, G., Abbas, B., Rampen, S. W., Massé, G., Allard, W. G., Belt, S. T., Robert, J., Rowland, S. J., Moldowan, J. M., Barbanti, S. M., Fago, F. J., Denisevich, P., Dahl, J., Trindade, L. A. F. & Schouten, S. (2004). The Rise of the Rhizosolenid Diatoms. *Science*, 304(5670), 584-587.

Desortová, B. (2010). *Algologie: Studijní distanční text*. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka.

Dutz, J., Koski, M. & Jónasdóttir, S. H. (2008). Copepod reproduction is unaffected by diatom aldehydes or lipid composition. *Limnology and Oceanography*, 53(1), 225–235.

Fink, P., Von Elert, E. & Jüttner, F. (2006). Oxylipins from freshwater diatoms act as attractants for a benthic herbivore. *Archiv für Hydrobiologie – Hauptbände*, 167(1-4), 561-574.

Franklin, D. J., Brussaard, C. P. D. & Berges, J. A. (2006). What is the role and nature of programmed cell death in phytoplankton ecology? *European Journal of Phycology*, 41(1), 1–14.

Fritz, L., Quilliam, M. A., Wright, J. L. C., Beale, A. M. & Work, T. M. (1992). An outbreak of domoic acid poisoning attributed to the pennate diatom *Pseudonitzschia australis*. *Journal of Phycology*, 28, 439–442.

Gleason, F. K. & Baxa, C. A. (1986). Activity of the natural algicide, cyanobacterin, on eukaryotic microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 33(1), 85–88.

Grofová, Z. (2010). Mastné kyseliny. *Medicína pro praxi*, 7, 388-390.

Gross, L. (2006). Diatoms Rely on Sophisticated Signaling Systems for Population Control. *PLoS Biology*, 4(3), 89.

Hansen, E., Even, Y. & Genevieve, A. (2004). The  $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -Unsaturated Aldehyde 2-trans-4-trans-decadienal Disturbs DNA Replication and Mitotic Events in Early Sea Urchin Embryos. *Toxicological Sciences*, 81(1), 190-197.

Hansen, E. & Eilertsen, H. C. (2006). Do the polyunsaturated aldehydes produced by *Phaeocystis pouchetii* (Hariot) Lagerheim influence diatom growth

during the spring bloom in Northern Norway? *Journal of Plankton Research*, 29(1), 87-96.

Hay, M. E. (2002). Preface: The Next Wave in Aquatic Chemical Ecology. *Journal of Chemical Ecology*, 28(10), 1897-1899.

Hildebrand, M., Kim, S., Shi, S., Scott, K. & Subramaniand, S. (2009). 3D Imaging of Diatoms with Ion-abrasion Scanning Electron Microscopy. *Journal of Structural Biology*, 166(3), 316–328.

Hombeck, M. & Boland, W. (1998). Biosynthesis of the Algal Pheromone Fucoserratene by the Freshwater Diatom *Asterionella formosa* (Bacillariophyceae). *Tetrahedron*, 54(37), 11033-11042.

Hrdina, V., Patočka, J., Měrka, V. & Hrdina, R. (2005). Kyselina domoová, nebezpečný neurotoxin. *Vojenské zdravotnické listy*, 74, 53-59.

Huseby, S., Degerlund, M., Eriksen, G. K., Ingebrigtsen, R. A., Eilertsen, H. Ch. & Hansen, E. (2013). Chemical Diversity as a Function of Temperature in Six Northern Diatom Species. *Marine Drugs*, 11(11), 4232-4245.

Huseby, S., Degerlund, M., Zingonec, A. & Hansend, E. (2012). Metabolic fingerprinting reveals differences between northern and southern strains of the cryptic diatom *Chaetoceros socialis*. *European Journal of Phycology*, 47(4), 480-489.

Ianora, A. & Miralto, A. (2010). Toxicogenic effects of diatoms on grazers, phytoplankton and other microbes: A review. *Ecotoxicology*, 19, 493–511.

Ikawa, M. (2004). Algal polyunsaturated fatty acids and effects on plankton ecology and other organisms. *UNH Center for Freshwater Biology Research*, 6(2), 17-44.

Jiráček, R. & Zeman, M. (2007). Vliv omega-3 a omega-6 nenasycených mastných kyselin na psychické poruchy. *Česká a slovenská Psychiatrie*, 103, 420–426.

Jüttner, F. (2001). Liberation of 5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid and other polyunsaturated fatty acids from lipids as a grazer defense reaction in epilipthic diatom biofilms. *Journal of Phycology*, 37(5), 744–755.

Jüttner, F., Messina, P., Patalano, C. & Zupo, V. (2010). Odour compounds of the diatom *Cocconeis scutellum*: effects on benthic herbivores living on *Posidonia oceanica*. *Marine ecology Progress Series*, 400, 63–73.

Kalina, T. & Váňa, J. (2005). *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Praha: Karolinum.

Lauritano, C., Borra, M., Carotenuto, Y., Biffali, E., Miralto, A., Procaccini, G. & Ianora, A. (2011a). Molecular Evidence of the Toxic Effects of Diatom Diets on Gene Expression Patterns in Copepods. *PLoS ONE*, 6(10): e26850.

Lauritano, C., Borra, M., Carotenuto, Y., Biffali, E., Miralto, A., Procaccini, G. & Ianora, A. (2011b). First molecular evidence of diatom effects in the copepod *Calanus helgolandicus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 404(1–2), 79–86.

Leflaive, J. & Ten-Hage. (2007). Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwaters: a comparison of allelopathic compounds and toxins. *Freshwater Biology*, 52(2), 199-214.

Leflaive, J. & Ten-Hage, L. (2009). Research review: Chemical interactions in diatoms: role of polyunsaturated aldehydes and precursors. *New Phytologist*, 184(4), 794-805.

Leflaive, J. & Ten-Hage, L. (2011). Effects of 2E,4E-Decadienal on Motility and Aggregation of Diatoms and on Biofilm Formation. *Microbial Ecology*, 61(2), 363–373.

Lundholm, N., Hansen P. J. & Kotaki, Y. (2004). Effect of pH on growth and domoic acid production by potentially toxic diatoms of the genera *Pseudo-nitzschia* and *Nitzschia*. *Marine ecology*, 273, 1-15.

Marrone, V., Piscopo, M., Romano, G., Ianora, A., Palumbo, A. & Costantini, M. (2012). Defensome against Toxic Diatom Aldehydes in the Sea Urchin *Paracentrotus lividus*. *PLoS ONE*, 7(2).

Miralto, A., Barone, G., Romano, G., Poulet, S. A., Ianora, A., Russo, G. L., Buttino, I., Mazzarella, G., Laabir, M., Cabrini M. & Giacobbe, M. G. (1999). The insidious effect of diatoms on copepod reproduction. *Nature*, 402, 173-176.

Mos, L. (2001). Domoic acid: a fascinating marine toxin. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 9, 79–85.

Molisch H. (1937) *Der Einfluss einer Pflanze auf die andere: Allelopathie*. Fischer Verlag, Jena.

Muller C. H. (1969). Allelopathy as a factor in ecological process. *Vegetatio*, 18, 348-357.

Nelson, D. M., Tréguer, M. A., Brzezinski, M. A., Leynaert, A. & Quéguiner, B. (1995). Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: Revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation. *Global Biogeochemical Cycle*, 9, 359-372.

Paul, C., Reunamo, A., Lindehoff, E., Bergkvist, J., Mausz, M. A., Larsson, H., Richter, H., Wängberg, S., Leskinen, P., Båmstedt, U. & Pohnert, G. (2012). Diatom Derived Polyunsaturated Aldehydes Do Not Structure the Planktonic Microbial Community in a Mesocosm Study. *Marine Drugs*, 10(4), 775–792.

Pohnert, G. (2005). Diatom/Copepod Interactions in Plankton: The Indirect Chemical Defense of Unicellular Algae. *ChemBioChem*, 6, 946 – 959.

Pohnert, G. & Boland, W. (1996). Biosynthesis of the algal pheromone hormosirene by the fresh-water diatom *Gomphonema parvulum* (Bacillariophyceae). *Tetrahedron*, 52, 10073–10082.

Pohnert, G. & Boland, W. (2002). The oxylipin chemistry of attraction and defense in brown algae and diatoms. *Natural Product Reports*, 19(1), 108-122.

Pohnert, G., Lumineau, O., Cueff, A., Adolph, S., Cordevant, Ch., Lange, M. & Poulet, S. (2002). Are volatile unsaturated aldehydes from diatoms the main line of chemical defence against copepods? *Marine Ecology Progress Series*, 245, 33–45.

Reynolds, C. S. (2007). *Ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press.

Ribalet, F., Berges, J. A., Ianora, A. & Casotti, R. (2007a). Growth inhibition of cultured marine phytoplankton by toxic algal-derived polyunsaturated aldehydes. *Aquatic Toxicology*, 85(3), 219–227.

Ribalet, F., Wichard, T., Pohnert, G., Ianora, A., Miralto, A. & Casotti A. (2007b). Age and nutrient limitation enhance polyunsaturated aldehyde production in marine diatoms. *Phytochemistry*, 68(15), 2059–2067.

Ribalet, F., Bastianini, M., Vidoudez, C., Acri, F., Berges, J., Ianora, A., Miralto, A., Pohnert, G., Romano, G., Wichard, T. & Casotti, R. (2014). Phytoplankton Cell Lysis Associated with Polyunsaturated Aldehyde Release in the Northern Adriatic Sea. *PLoS ONE*, 9(1), e85947.

Rice, E. L. (1979). Allelopathy - An update. *The Botanical Review*, 45(1), 15-109.

Rosypal, S., Beneš, J., Buchar, J., Heráň, I., Homola, J., Hůrka, K., Kubišta, V., Kvaček, Z., Linc, R., Losos, B., Mladá, J., Mladý, F., Novotný, I., Pavlová, L., Pikálek, P., Romanovský, A., Slavíková, Z., Slavíková, J., Šásek, V., Šebánek, J., Šmarda, J., Štys, P. & Urban, Z. (1994). *Přehled biologie*. Druhé vydání. Praha: Scientia.

Rothpletz, A. (1896). Über die Fylsch-Fucoiden und einige andere fossile Algen, sowie über liasische diatomeen führende Hornschwämme. *Zeitschrift der Deutschen Geologischen Gesellschaft*, 48, 854–915.

Sasso, S., Pohnert, G., Lohr, M., Mittag, M. & Hertweck, C. (2012). Microalgae in the postgenomic era: A blooming reservoir for new natural products. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews*, 36(4), 761–785.

Seo, S., Jung, J., Paek, S., Lee, Y., Kim, S., Lee, K. & Suh, Y. (2004). Asymmetric Total Synthesis of Bacillariolide III, a Marine Oxylipin. *Organic Letters*, 6(3), 429-432.

Seo, J. S., Lee, K., Rhee, J., Hwang, D., Lee, Y., Park, H. G., Ahn, I. & Lee, J. (2006). Environmental stressors (salinity, heavy metals, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) modulate expression of glutathione reductase (GR) gene from the intertidal copepod *Tigriopus japonicus*. *Aquatic Toxicology*, 80(3), 281–289.

Sijtsma, L. & de Swaaf, M. E. (2004). Biotechnological production and applications of the ω-3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64(2), 146–153.

Silver, M. W., Bargu, S., Coale, S. L., Benitez-Nelson, C. R., Garcia, A. C., Roberts, K. J., Sekula-Wood, E., Bruland, K. W. & Coaled, K. H. (2010). Toxic diatoms and domoic acid in natural and iron enriched waters of the oceanic Pacific. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(48), 20762–20767.

Sims, P. A., Mann, D. G. & Medlin, L. K. (2006). Evolution of the diatoms: insights from fossil, biological and molecular data. *Phycologia*, 45(4), 361-402.

Sinha, S., Bhaumik, T. & Ghosh, S. (2005). An asymmetric route to the construction of the bicyclic framework of marine eicosanoids Bacillariolides. *Archive for Organic Chemistry*, 2005(11), 24-31.

Smol, J. P. & Stoermer, E. F. (2010). *The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences*. Druhé vydání. Cambridge University Press.

Taylor, R. L., Caldwell, G. S. & Bentley, M. G. (2005). Toxicity of algal-derived aldehydes to two invertebrate species: Do heavy metal pollutants have a synergistic effect? *Aquatic Toxicology*, 74(1), 20–31.

Taylor, R. L., Caldwell, G. S., Dunstan, H. J. & Bentley, M. G. (2007). Short-term impacts of polyunsaturated aldehyde-producing diatoms on the harpacticoid copepod, *Tisbe holothuriae*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 341(1), 60–69.

Todd, E. C. D. (1993). Domoic Acid and Amnesic Shellfish Poisoning - A Review. *Journal of Food Protection*, 56(1), 69-83.

Van Donk, E., Ianora, A. & Vos, M. (2011). Induced defences in marine and freshwater phytoplankton: a review. *Hydrobiologia*, 668(1), 3–19.

Vardi, A., Formiggini, F., Casotti, R., De Martino, A., Ribalet, F., Miralto, A. & Bowler, C. (2006). A Stress Surveillance System Based on Calcium and Nitric Oxide in Marine Diatoms. *PLoS Biology*, 4(3), e60.

Vardi, A., Bidle, K. D., Kwityn, C., Hirsh, D. J., Thompson, S. M., Callow, J. A., Falkowski, P. & Bowler, Ch. (2008). A Diatom Gene Regulating Nitric-Oxide Signaling and Susceptibility to Diatom-Derived Aldehydes. *Current Biology*, 18(12), 895–899.



Vardi, A. (2008). Cell signaling in marine diatoms. *Communicative & Integrative Biology*, 1(2), 134–136.

Végh, V. (2008). Neurologické poruchy u dětí a nenasycené mastné kyseliny. *Farmi news*, 2008(3), 140.

Vidoudez, C. & Pohnert, G. (2008). Growth phase-specific release of polyunsaturated aldehydes by the diatom *Skeletonema marinoi*. *Journal of plankton research*, 30(11), 1305–1313.

Vidoudez, C., Nejstgaard, J. C., Jakobsen, H. H. & Pohnert, G. (2011). Dynamics of dissolved and particulate polyunsaturated aldehydes in mesocosms inoculated with different densities of the diatom *Skeletonema marinoi*. *Marine Drugs*, 9(3), 345–58.

Wells, M. L., Trick, Ch. G., Cochlan, W. P., Hughes, M. P. & Trainer, V. L. (2005). Domoic acid: The synergy of iron, copper, and the toxicity of diatoms. *Limnology and Oceanography*, 50(6), 1908–1917.

Wen, Z., Jiang, Y. & Chen, F. (2002). High cell density culture of the diatom *Nitzschia laevis* for eicosapentaenoic acid production: fed-batch development. *Process Biochemistry*, 37(12), 1447–1453.

Wen, Z. & Chen, F. (2003). Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. *Biotechnology Advances*, 21(4), 273–294.

Wichard, T., Poulet, S. A., Halsband-Lenk, C., Albaina, A., Harris, R., Liu, D. & Pohnert, G. (2005). Survey of the Chemical Defence Potential of Diatoms: Screening of Fifty Species for  $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -unsaturated aldehydes. *Journal of Chemical Ecology*, 31(4), 949–958.

Wink, M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64(1), 3–19.

Yamasaki, Y., Nagasoe, S., Matsubara, T., Shikata, T., Shimasaki, Y., Oshima, Y. & Honjo, T. (2007). Allelopathic interactions between the bacillariophyte *Skeletonema costatum* and the raphidophyte *Heterosigma akashiwo*. *Marine Ecology Progress Series*, 339, 83–92.

Yokoyama, M., Origasa, H., Matsuzaki, M., Matsuzawa, Y., Saito, Y., Ishikawa, Y., Oikawa, S., Sasaki, J., Hishida, H., Itakura, H., Kita, T., Kitabatake, A., Nakaya, N., Sakata, T., Shimada, K. & Shirato, K. (2007). Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. *The Lancet*, 369(9567), 1090–1098.