

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie se zaměřením na vzdělávání

Studijní obor: Biologie se zaměřením na vzdělávání – Chemie se zaměřením na vzdělávání



Tea Františka Cleetonová

Komunikace rozsivek pomocí feromonů
Communication of diatoms by pheromones

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: Mgr. Jana Kulichová, Ph.D.

Praha, 2024

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 31.7.2024

Poděkování

V první řadě bych chtěla poděkovat své školitelce Mgr. Janě Kulichové, Ph.D. za přínosné rady a trpělivost při mém psaní této práce. Nesmírné díky patří také Franklinovi – bez jeho tvorby bych se nikdy nedostala až sem.

Abstrakt

Komunikace zprostředkovaná chemickými látkami – infochemikáliemi – patří k nejstarším a nejvýznamnějším formám komunikace na Zemi, kterou využívají všechny organismy. Mezi nejvýznamnější infochemikálie se řadí feromony, které byly objeveny i u rozsivek. Rozsivky jsou diverzifikovanou skupinou fotosyntetizujících jednobuněčných mikroorganismů, která se významně podílí na světové primární produkci i globálních cyklech křemíku a uhlíku.

Feromony byly potvrzeny u čtyř druhů penátních rozsivek: *Seminavis robusta*, *Cylindrotheca closterium*, *Pseudo-nitzschia multistriata* a *Nanofrustulum trainorii*. U druhu *S. robusta* jsou známy i chemické struktury feromonů – jedná se o peptidické látky, u ostatních druhů nebyly chemické struktury feromonů stále objasněny. Aktivita feromonů tohoto druhu je také ovlivňována vnějšími faktory jako je velikost buňky, dostupnost křemíku, nebo přítomnost bakterií, které jejich funkci mohou podporovat nebo inhibovat. Tato práce shrnuje dosavadní poznatky o feromonech rozsivek včetně jejich struktur a mechanismů působení. Zabývá se také vnějšími vlivy na funkci feromonů.

Klíčová slova: rozmnožování, signalizace, infochemikálie, chemoatrakce, *Seminavis robusta*, *Cylindrotheca closterium*, *Pseudo-nitzschia multistriata*

Abstract

Communication mediated by chemical substances – infochemicals – is one of the oldest and most important forms of communication on Earth, used by all organisms. Among the most important infochemicals are pheromones, which have also been discovered in diatoms. Diatoms are a diversified group of photosynthesizing unicellular microorganisms that contribute significantly to global primary production and global silicon and carbon cycles.

Pheromones have been confirmed in four species of pennate diatoms: *Seminavis robusta*, *Cylindrotheca closterium*, *Pseudo-nitzschia multistriata* and *Nanofrustulum trainorii*. In *S. robusta* the chemical structures of the pheromones are also known – they are peptidic substances. In the other species the chemical structures of the pheromones are yet to be elucidated. The activity of the pheromones of this species is also influenced by external factors such as cell size, silicon availability, or the presence of bacteria that may promote or inhibit their function. This paper summarizes the current knowledge of diatom pheromones, including their structures, mechanisms of action, and external influences on their function.

Key words: mating, signalling, infochemicals, chemoattraction, *Seminavis robusta*, *Cylindrotheca closterium*, *Pseudo-nitzschia multistriata*

Obsah

1. Úvod	1
2. Rozsivky	3
2.1. Životní cyklus	3
2.2. Chemická komunikace rozsivek	4
3. Objev feromonů u rozsivek	6
4. Feromony druhu <i>Seminavis robusta</i>	7
4.1. Atrakční feromon	8
4.2. Indukční feromony	9
5. Feromony <i>Cylindrotheca closterium</i>	10
6. Feromony <i>Pseudo-nitzschia multistriata</i>	11
7. Vnější vlivy na pohlavní rozmnožování	12
7.1. Velikost buněk	12
7.2. Dostupnost živin	13
7.3. Interakce s bakteriemi	13
8. Závěr	15
Použitá literatura	17

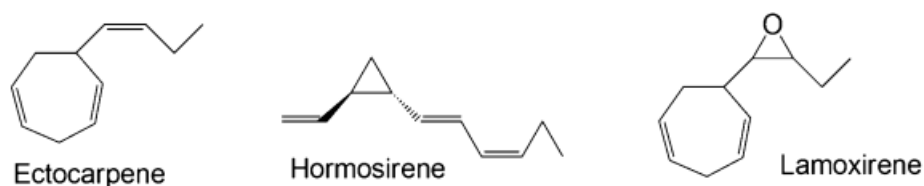
1. Úvod

Komunikace prostřednictvím chemických signálů je nejstarší formou komunikace, která je sdílená všemi organismy, včetně bakterií. Velký význam má chemická komunikace ve vodním prostředí, kde je zvuková a vizuální komunikace velmi ztížena fyzikálními podmínkami (Brönmark & Hansson, 2000). Může podávat informace o přítomnosti predátorů či patogenů, nebo organismů stejného druhu a jejich fyziologickém stavu (Graff Van Creveld et al., 2022; Vardi et al., 2006). Identifikací chemických látek využívaných ke komunikaci, jejich biosyntézu, degradaci, recepci, evoluci a vliv na organismy zkoumá odvětví chemické ekologie (Bergström, 2007). Chemické látky zprostředkující chemickou komunikaci se nazývají infochemikálie (*infochemicals*) (Dicke & Sabelis, 1988). Významnými infochemikáliemi jsou mimo jiné i feromony.

Feromony definovali Karlson a Lüscher (1959) jako chemický signál sekretovaný v malých množstvích, který indukuje specifické chování nebo fyziologickou změnu v jiném jedinci stejného druhu. Feromony jsou velmi druhově specifické – mohou to být naprosto odlišné chemické látky i u blízce příbuzných druhů (Symonds & Elgar, 2008). Sexuální feromony jsou nezbytné pro reprodukci, a tedy i přežití daného druhu. Zajišťují totiž synchronizaci exprese gamet opačných pohlaví. Mohou ovlivňovat také pohyb gamet nebo diferenciaci pohlavních struktur (Sekimoto, 2005) Nejvíce studované jsou feromony hmyzu, které se přenášejí zpravidla vzduchem. Feromony řas jsou přenášeny vodou a už mnoho let jsou známy u zástupců chaluhy a zelených řas (Maier & Müller, 1986; Pohnert & Boland, 2002; Sekimoto et al., 1990; Starr et al., 1995; Starr & Jaenicke, 1974).

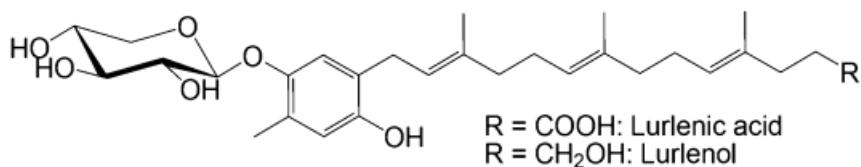
Nejvíce a nejdéle jsou známy feromony u makroskopických hnědých řas. Jejich feromony jsou zpravidla nepolární uhlovodíky s 8 nebo 10 uhlíky a jsou syntetizovány z mastných kyselin (Pohnert & Boland, 2002). První byl objeven atrakční feromon ektokarpen (Obrázek 1) u druhu *Ectocarpus siliculosus* (Müller et al., 1971, citováno dle Frenkel et al., 2014). Ektokarpen jako atrakční feromon využívají i jiné druhy hnědých řas, například *Ectocarpus fasciculatus*, *Adenocystis utricularis*, nebo *Sphacelaria rigidula* (Müller et al., 1985a; Müller & Gassmann, 1980). Byly objeveny i další nepolární uhlovodíky, které u hnědých řas slouží jako chemoatraktanty. Jedním z příkladů je hormosiren (Obrázek 1), který je atrakčním feromonem u mnoha druhů, například *Hormosira banksii*, *Xiphophora chondrophylla*, *Durvillaea antarctica* i dalších (Müller et al., 1985b). U hnědých řas se často vyskytuje i jiný typ feromonu zvaný „release faktor“, který vylučují zpravidla samice a indukuje

vypouštění samčích gamet. Jedná se například o lamoxiren (Obrázek 1) u zástupců rodu *Laminaria*, Release faktor má často i chemoatrakční funkci (Maier & Müller, 1986).



Obrázek 1: Příklady feromonů hnědých řas. Převzato a upraveno z (Frenkel et al., 2014)

Feromony zelených řas jsou známy především u druhů ze skupiny Chlorophyta. U jednobuněčného druhu *Chlamydomonas allensworthii* je pohlavní rozmnožování indukováno nedostatkem dusíku v prostředí a po indukci začnou samičí gamety produkovat atrakční feromon (Obrázek 2), vůči němuž vykazují samčí gamety chemotaxi a usnadňuje párování gamet (Starr et al., 1995). U mnohobuněčného druhu *Volvox carteri* byl objeven indukční feromon, který produkují samčí kolonie po teplotním šoku. Tento feromon indukuje gametogenezi v samčích i samičích klonech a má glykoproteinovou strukturu (Starr & Jaenicke, 1974; Sumper et al., 1993). Indukční glykoproteiny byly objeveny i u druhů *Closterium peracerosum* a *Closterium ehrenbergii* které patří do skupiny Streptophyta (Fukumoto et al., 1997; Sekimoto et al., 1990).



Obrázek 2: Atrakční feromon druhu *Chlamydomonas allensworthii*. Převzato z (Frenkel et al., 2014)

V této práci se budu zabývat feromony rozsivek, kterými se od jejich objevení v roce 2011 zabývá několik skupin vědců. Cílem této práce je především shrnout dosavadní poznatky o feromonech rozsivek, jelikož hodně nových poznatků bylo objeveno v posledních několika letech a chybí práce která by je shrnovala. Znalosti týkající se feromonů dále posouvají lidské vědění o této významné skupině mikroskopických řas, která je nezbytným světovým primárním producentem. Chtěla bych také porovnat feromony jednotlivých zkoumaných druhů rozsivek mezi sebou a s feromony zelených a makroskopických hnědých řas z hlediska jejich chemických struktur.

2. Rozsivky

Rozsivky (Bacillariophyta) jsou mikroskopické fototrofní organismy, které se hojně vyskytují ve slané i sladké vodě. Patří mezi jednu z nejpočetnějších skupin řas s počtem druhů odhadovaných na 30 000-100 000 (Mann & Vanormelingen, 2013). Jsou významnými primárními producenty a hrají velkou roli ve vodních cyklech uhlíku i křemíku (Yool & Tyrrell, 2003). Jsou charakteristické svou křemičitou schránkou (frustulou) která je tvořena dvěma částmi (téky). Spodní téka (hypotéka) je menší než vrchní (epitéka) a zapadá do ní – jako dno a víko známé Petriho misky. Historicky jsou rozsivky systematicky děleny podle symetrie frustuly na dvě skupiny – centrické rozsivky, jejichž frustula je radiálně symetrická a penátní rozsivky s bilaterálně souměrnou frustulou, Round et al. (1990) navíc rozdělili penátní rozsivky na dvě taxonomicky stejnocenné skupiny – rafidní penátní, které mají rafe (kanálek v téce, kterým je vylučován sliz umožňující pohyb po povrchu) a arafidní penátní, které rafe nemají. Díky molekulárním poznatkům se zjistilo, že z těchto tří skupin je monofyletickou pouze skupina rafidních penátních rozsivek, dnes taxonomicky členěna jako podtřída Bacillariophycidae (Medlin, 2016).

2.1. Životní cyklus

Životní cyklus rozsivek je charakteristický dlouhou vegetativní fází (zpravidla měsíce, někdy roky) a velmi krátkou pohlavní fází (zpravidla hodiny až dny) (Chepurnov et al., 2004). Během celého životního cyklu jsou buňky diploidní a jedinou haploidní buňkou jsou gamety. Při mitotickém dělení během vegetativní fáze zdědí každá dceřiná buňka jednu rodičovskou téku, která se stane její novou epitékou. Hypotéka se poté syntetizuje uvnitř epitéky zděděné od rodiče a je tedy vždy menší než epitéka. Jedna ze dvou dceřiných buněk je při mitotickém dělení menší než buňka mateřská a tímto dochází k postupnému zmenšování buněk v populaci (Chepurnov et al., 2008). Buňky se tedy musí po určité době navrátit k původní velikosti – kdyby se zmenšovaly neustále, dosáhnou kritické životní velikosti a zemřou (Lewis, 1984; Round et al., 1990).

Zvětšení na původní velikost může probíhat buď pohlavním množením, nebo v ojedinělých případech nepohlavně (apomixií). Proces zvětšení se nazývá auxosporulace – ze zygoty vzniká auxospora, což je buňka která se dokáže rozpínat až na původní velikost vegetativních buněk, Z auxosporu poté vznikne nová iniciální buňka která se dále vegetativně množí (Chepurnov et al., 2004; Lewis, 1984). Pohlavní rozmnožování je podmíněno hlavně velikostí – buňka se může pohlavně množit až když dosáhne určité druhově specifické velikosti

zvané “sexual size treshold” (SST), která je většinou 30-40 % původní velikosti (Lewis, 1984). Fáze pohlavního rozmnožování se liší u jednotlivých skupin rozsivek a stále je známá jen u několika málo druhů. Pohlavní fáze je totiž velmi krátká oproti vegetativní a není tedy jednoduché ji pozorovat v laboratoři (Chepurnov et al., 2008).

Pohlavní rozmnožování centrických rozsivek se vyznačuje oogamií – nepohyblivé vaječné buňky jsou oplozeny menšími pohyblivými spermatickými buňkami. Jejich pohlavní cyklus je homotalický – párované gamety mohou být odvozeny ze stejných klonů, pohlaví tedy není předurčené a mohou se rozmnožovat intraklonálně i interklonálně (Chepurnov et al., 2004; Kaczmarska et al., 2013). U centrických rozsivek je pohlavní rozmnožování indukováno vnějšími podmínkami jako je světlo a přítomnost živin (Chepurnov & Mann, 2004).

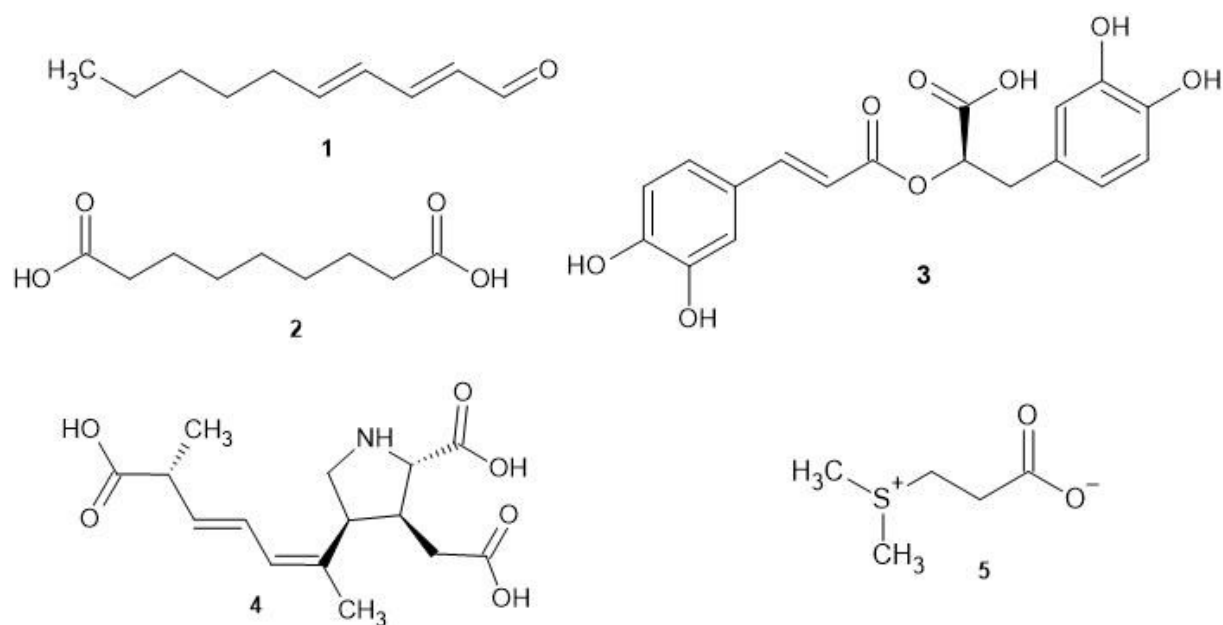
Penátní rozsivky mají rozmnožování mnohem rozmanitější a párování, gametogeneze a oplození se liší se u jednotlivých skupin (Chepurnov et al., 2004; Round et al., 1990). Většinou jsou heterotalické – existují geneticky určené “mating types” (MT) a k pohlavnímu rozmnožování dojde pouze při křížení MT^+ a MT^- (Chepurnov & Mann, 2004; Russo et al., 2018; Vanstechelman et al., 2013). Zpravidla u nich probíhá gametangiogamie – nejdříve dochází k párování buněk opačných MT a následně se tvoří gamety které okamžitě splývají v zygotu (Chepurnov et al., 2004; Chepurnov & Mann, 2004). Většina arafidních penátních rozsivek je anizogamní – gamety opačných MT se morfologicky liší a většina rafidních penátních rozsivek je naopak izogamní – gamety opačných MT jsou morfologicky nerozeznatelné (Chepurnov & Mann, 2004; Round et al., 1990). Pohlavní rozmnožování je u penátních rozsivek indukováno nejen podmínkami prostředí, ale také feromony, které u nich byly objeveny v roce 2011 (Chepurnov et al., 2004; Sato et al., 2011).

2.2. Chemická komunikace rozsivek

Evoluční a ekologický úspěch mořských rozsivek může být z velké části zásluhou složitých mechanismů k rozpoznávání a reagování na měnící se mořské prostředí (Smetacek, 2001; Vardi et al., 2006). Mořské prostředí totiž není homogenní, naopak je velmi heterogenní – tvoří se v něm gradienty živin i jiných chemických látek, které významně ovlivňují životy mikroorganismů (Stocker, 2012). Mezi tyto chemické látky patří také infochemikálie, kterých se u rozsivek objevuje celá škála.

Významnými infochemikáliemi jsou oxylipiny – deriváty mastných kyselin vzniklé jejich oxidací, patří mezi ně například (2E,4Z/E)-dekadienal (Obrázek 3) (Pohnert & Boland, 2002). Oxylipiny slouží rozsivkám jako obrana proti spásáčům, konkrétně narušují

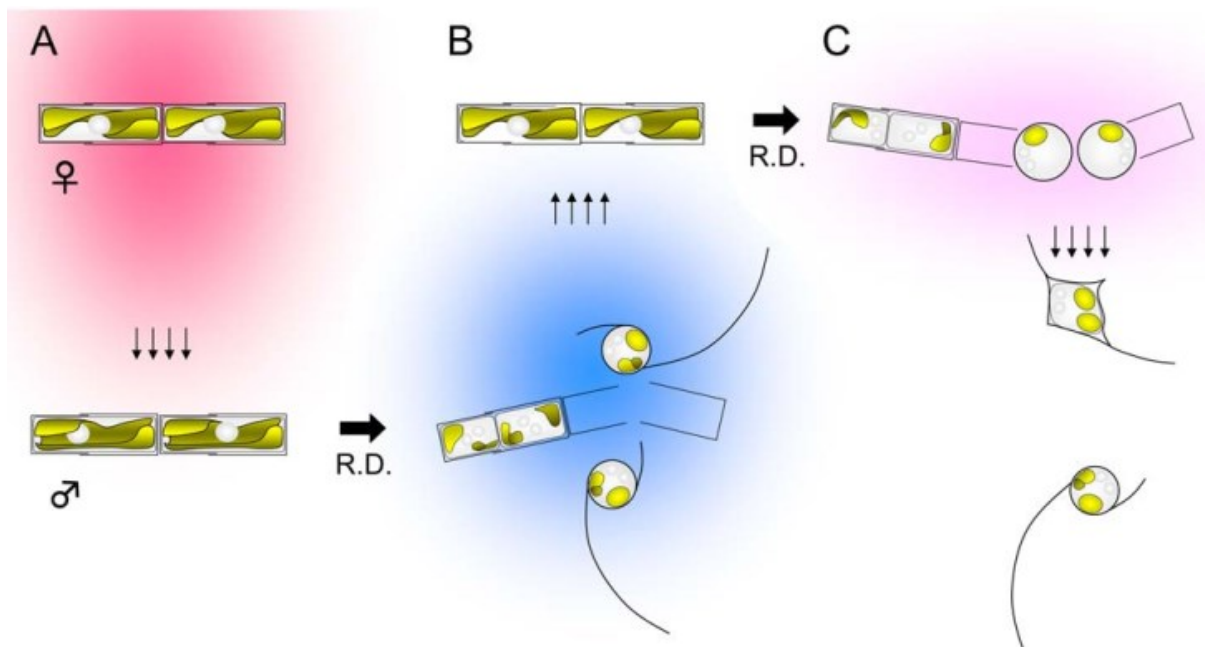
embryonální vývoj klanonožců (Miralto et al., 1999). Některé oxylipiny mohou zároveň fungovat jako infochemikálie pro ostatní rozsivky v okolí. Oxylipiny totiž vylučují zraněné rozsivky a ostatní buňky v jejich okolí může relativně malá koncentrace této látky informovat o přítomnosti stresoru (spásače) v jejich blízkosti (Vardi et al., 2006). Další významnou infochemikálií je kyselina domoová (domoic acid, dále jako DA) (Obrázek 3), kterou produkují rozsivky rodů *Nitzschia* a *Pseudo-nitzschia*. DA je neurotoxin, který je syntetizován z isoprenových jednotek (Ramsey et al., 1998). DA je toxická pro spásače rozsivek, ale kumuluje se v potravním řetězci a působí otravu i ptáků a savců (Clayden et al., 2005; Olesen et al., 2022). Zároveň ovšem může sloužit jako infochemikálie, která inhibuje růst kompetující rozsivky *Skeletonema marinoi* (Prince et al., 2013). Mnoho infochemikálií rozsivky využívají k udržení mutualistických vztahů s bakteriemi (Kuhlisch et al., 2024). Mezi ně patří například kyselina azelaová a kyselina rozmarýnová (Obrázek 3), které produkuje *Asterionellopsis glacialis*. Tyto látky podporují růst a připojení mutualistických bakterií a inhibují oportunistické bakterie (Shibl et al., 2020) Další infochemikálií je dimethylsulfoniopropionát (dále jako DMSP) (Obrázek 3). Je to látka která je syntetizovaná z *S*-methylmethioninu a primárně slouží jako osmolyt (Curson et al., 2017). Rozsivky jej pravidelně vypouštějí a mutualistické bakterie vůči němu vykazují chemotaxi a pro některé je i důležitým zdrojem uhlíku a síry (Seymour et al., 2010).



Obrázek 3: Vybrané infochemikálie rozsivek. 1- dekadienal; 2 - kyselina azelaová; 3 - kyselina rozmarýnová; 4 - kyselina domoová; 5 - dimethylsulfoniopropionát

3. Objev feromonů u rozsivek

Přítomnost feromonů u rozsivek byla předpokládána dlouhou dobu, z důvodu vysoké úspěšnosti pohlavního rozmnožování a výskytu feromonů u jiných druhů řas (Chepurnov et al., 2004; Pohnert & Boland, 2002). Důkaz feromonů přinesli až Sato et al. (2011) u arafidní penátní rozsivky *Nanofrustulum trainorii* (dříve nazývána *Pseudostaurosira trainorii*) patřící do podtřídy Fragilariophyidae. *N. trainorii* je anizogamní druh a dochází u něj ke gametogamii. Samčí gamety jsou pohyblivé a mají vláknité struktury připomínající bičík, zatímco samičí gamety jsou sférické bez vnějších struktur. Přinesli důkazy, že vznik samčích gamet je indukován nejen SST, ale i feromonem ph-1, který je produkován samičími buňkami pod SST. Samčí gamety poté produkují feromon ph-2, který spouští tvorbu samičích gamet. (Obrázek 4) Dokázali tedy přítomnost feromonů indukujících sexuální rozmnožování (dále jako SIP – sex-inducing pheromone, dle pojetí autorů Moeys et al., 2016) Autoři dále předpokládají přítomnost atrakčního feromonu ph-3, díky kterému se samčí gamety pohybují směrem k samičím. Dle jejich pozorování se samčí gamety po uvolnění z frustuly pohybují zdánlivě nesměrovaným pohybem (tzv. random walk) a v blízkosti samičí gamety ovšem změni směr svého pohybu přímo k samičí gametě. Přítomnost atrakčního feromonu u *N. trainorii* však zatím nebyla dokázána.

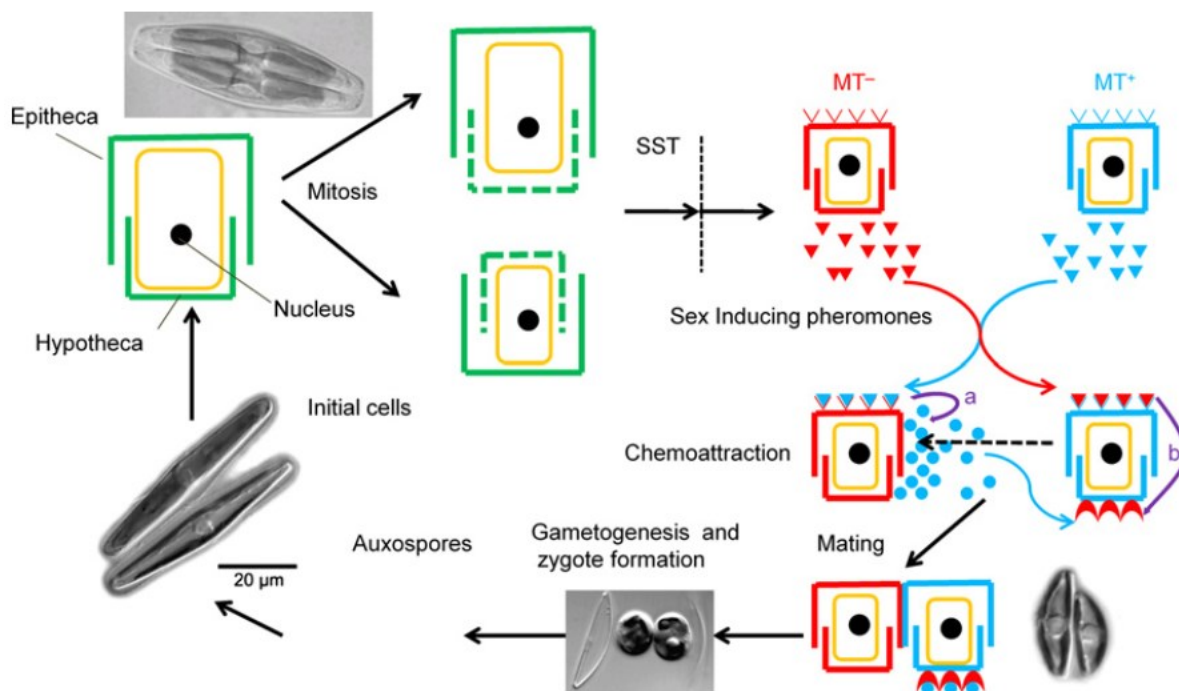


Obrázek 4: Ilustrace znázorňující feromonové interakce *N. trainorii*. A – samičí buňky produkují ph-1 (růžový), který indukuje gametogenezi u samčích buněk. B – samčí gamety produkují ph-2 (modrý), který indukuje gametogenezi samičích buněk. C – samčí gamety produkují ph-3 (světle růžový), vůči kterému samčí gamety vykazují chemotaxi. Obrázek převzatý z (Sato et al., 2011)

4. Feromony druhu *Seminavis robusta*

Seminavis robusta je mořská bentická rozsivka ze skupiny rafidních penátních rozsivek, řadící se do řádu Naviculales (Danielidis & Mann, 2002). Tento druh je snadný na pozorování a kultivaci, buňky jsou poměrně velké (mají až 80 μm a SST je okolo 50 μm) a snadno rostou na povrchu Petriho misek. Lze je pozorovat přímo v pokusných nádobách při relativně malém zvětšení (Chepurnov et al., 2008). Má poměrně krátký životní cyklus, v optimálních laboratorních podmínkách se buňky dělí každých 12 hodin (Gillard et al., 2008) a životní cyklus může při exponenciálním růstu trvat pár týdnů. Tento druh má také vysokou toleranci k *inbreedingu*, křížení mezi sourozeneckými buňkami je úspěšné a přináší životaschopné potomky (Chepurnov et al., 2008). Má heterotalický systém rozmnožování (Chepurnov et al., 2002), lze tedy snadno pozorovat její pohlavní rozmnožování, které probíhá až při smíchání kultur opačných MT: Pohlavní rozmnožování je synchronní a vysoce účinné, hlavně díky feromonům (Gillard et al., 2013; Chepurnov et al., 2002, 2008). Druh *S. robusta* se stal modelovým druhem pro výzkum feromonů u rozsivek. Jeho feromonová signalizace je nejvíce prozkoumaná a jsou k dispozici i data týkající se molekulárních mechanismů v souvislosti s feromony. Toto jsou data, která u jiných druhů rozsivek, u nichž feromony byly objeveny, stále chybí.

S. robusta má jako heterotalický druh dva opačné MT, které lze rozlišit nejen geneticky (Vanstechelman et al., 2013), ale i svým chováním. MT^+ je migrační typ a shlukuje se kolem atrakčního MT^- (Gillard et al., 2013) Zvýšená pohyblivost MT^+ buněk je podmíněna feromonem SIP^- , který je produkován MT^- buňkami pod SST a na druhou stranu je aktivita MT^- buněk podmíněna feromonem SIP^+ , který produkují MT^+ buňkami pod SST. Po aktivaci SIP^+ začnou MT^- buňky produkovat atrakční feromon, díky němuž jsou pohyblivé MT^+ buňky schopny MT^- buňky lokalizovat může dojít k párování a následné gametogenezi (Obrázek 5) (Gillard et al., 2013; Chepurnov et al., 2002; Moeys et al., 2016)



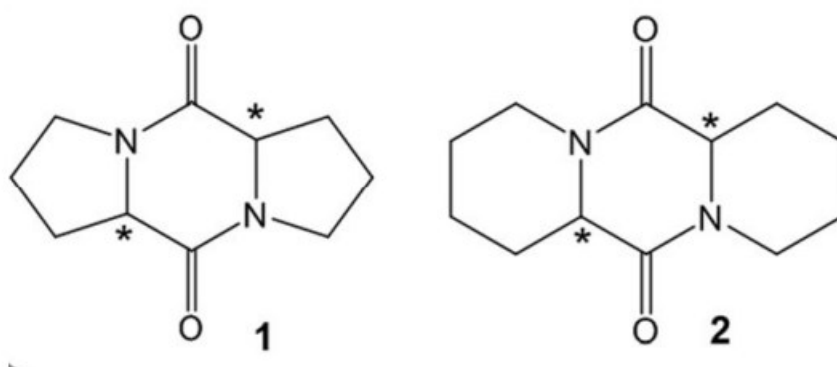
Obrázek 5: Životní cyklus a signalizace *S. robusta*. Mitotickým dělením se buňky zmenšují. Při dosažení SST produkuje MT^+ indukční feromon SIP^+ (modré trojúhelníky). SIP^+ indukuje (a) tvorbu atrakčního feromonu diprolinu (modrá kolečka) u MT^- . Zároveň MT^- produkuje indukční feromon SIP^- (červené trojúhelníky). SIP^- indukuje (b) tvorbu diprolinových receptorů (červené půlkruhy) u MT^+ . Po chemoatrakci (přerušovaná šipka) dochází ke gametogenezi a tvorbě zygot. Ze zygot vznikají auxospory, které se zvětší a vytvoří iniciální buňky. Obrázek převzatý z (Frenkel et al., 2014)

4.1. Atrakční feromon

Atrakčním feromonem u *S. robusta* je (S,S)-2,5,-diketopiperazin (Obrázek 6), dále označovaný jako diprolin (Gillard et al., 2013). MT^+ buňky vůči němu vykazují chemotaxi - pohyb směrem ke zdroji feromonu a chemokinezi – zrychlení pohybu v blízkosti feromonu (Bondoc et al., 2016a). Podobné propojení chemotaxe a chemokineze bylo do té doby známo u bakterií (Garren et al., 2014), u mikroskopických řas se jedná o první nález. Způsob pohybu MT^+ buněk v přítomnosti atrakčního feromonu je popisován jako „biased random walk“ – pohybují se směrem ke zdroji feromonu, ale neobrací se k němu, - chybí u nich angulární orientace (Bondoc et al., 2016a).

Receptory diprolinu mají poměrně nízkou specifitu. Biologicky aktivní je kromě přírodně syntetizovaného (S,S)-diprolinu také (R,R)- a (S,R)-diprolin (Gillard et al., 2013; Lembke et al., 2018). Toto je pro feromony velmi netypické, protože například u hmyzu jsou feromonové interakce založeny zpravidla na stereospecifitě (Mori, 2007). Receptory diprolinu jsou s největší pravděpodobností založeny na hydrofobních interakcích s vedlejšími uhlíkovými kruhy, protože kromě diprolinu je biologicky aktivní také strukturně podobná látka odvozena

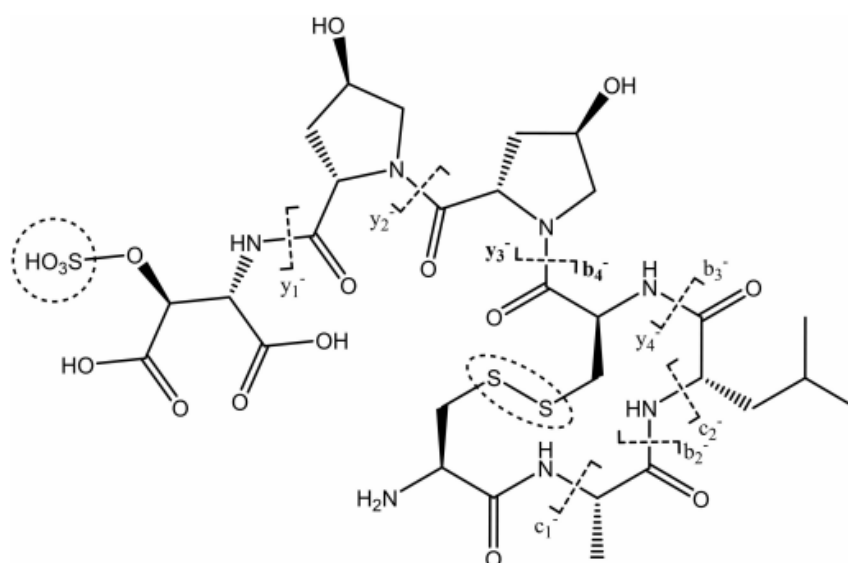
od kyseliny pipekolové (Obrázek 6), která má kruhy šestičlenné (Lembke et al., 2018). Takto nízká specifita ovšem může otevírat velký prostor pro interferenci feromonové signalizace. Diketopiperaziny jsou totiž častými metabolity, v mořích je produkují také bakterie a mikroskopické houby (Borthwick, 2012)



Obrázek 6: Chemické strukturní vzorce biologicky aktivní chemoatraktanty u druhu *S. robusta*. **1** - přírodně syntetizovaný diprolin. MT⁺ buňky syntetizují diprolin v konfiguraci (S,S)-**1**, aktivní je ale i v ostatních konfiguracích. **2** - Uměle syntetizovaný diketopiperazin odvozený od kyseliny pipekolové. Je aktivní ve všech konfiguracích. Obrázek převzatý z (Lembke et al., 2018)

4.2. Indukční feromony

Indukční feromony produkují všechny buňky po překročení SST a zastavují buněčný cyklus opačného MT v G1 fázi (Gillard et al., 2013; Moeys et al., 2016). V G1 fázi totiž dochází mimo jiné k expresi genů spouštějících meiózu (Bilcke et al., 2021; Chepurnov et al., 2002; Pawlowski et al., 2007).



Obrázek 7: Indukční feromon SIP⁺. přerušovanou čarou je vyznačena disulfidová vazba a sulfatovaný β -hydroxylovaný zbytek kyseliny asparagové. Obrázek převzatý z (Klapper et al., 2021)

v mořských, brakických i sladkovodních oblastech a vyskytuje se dokonce uvnitř mořského ledu (Von Quillfeldt et al., 2003). Tento druh se snadno kultivuje v laboratoři a lehce se uchovává kryoprezervací. Pro své široké ekologické rozšíření i snadnou kultivaci je tento druh modelem v mnoha ekofyziologických biochemických i molekulárních studiích (např. Araújo et al., 2008; McLachlan et al., 2009; Medlin & Mann, 2007). Má heterotalický systém rozmnožování, lze rozeznat motilní MT^+ a atrakční MT^- (Vanormelingen et al., 2013, Klapper et al., 2021) Pohlavní rozmnožování je poměrně krátké (první iniciální buňky se objevují už 24 hodin po smíchání opačných MT)

MT^- buňky po zmenšení na SST začnou produkovat atrakční feromon, vůči kterému MT^+ buňky pod SST vykazují chemokinezi – v přítomnosti tohoto feromonu se MT^+ buňky zrychlí až 2,7krát (Klapper et al., 2021). Přesné pozorování chemotaxe a chemokineze, jako u *S. robusta* (Bondoc et al., 2016a) zatím nebylo provedeno. Tento atrakční feromon zároveň způsobuje zastavení buněčného cyklu MT^+ v G1 fázi – má tedy dvojí funkci (Klapper, 2024). MT^- buňky kromě atrakčního feromonu vylučují další feromon při spárování opačných MT, který v MT^+ indukuje gametogenezi. Tento chemický signál je nestabilní a vydrží v médiu jen krátkou dobu (Klapper, 2024; Klapper et al., 2021).

U feromonů *C. closterium* se zatím nepodařilo objasnit jejich chemickou strukturu. Klapper (2024) ve své práci, kde se o toto pokoušela, navrhuje další postupy ke zjištění chemické podstaty těchto látek. včetně ortogonální separace pomocí vylučovací chromatografie a využití NMR metabolomiky.

6. Feromony *Pseudo-nitzschia multistriata*

Pseudo-nitzschia multistrata je planktonní mořská rozsivka s dobře popsaným heterotalickým rozmnožovacím cyklem řadící se do řádu Bacillariales. Přítomnost feromonů byla zjištěna pokusy s populacemi opačných MT, které byly odděleny filtrem, který umožnil průchod pouze chemickým látkám, nikoli buňkám. I přes tento filtr došlo v obou populacích k zastavení buněčného cyklu v G1 fázi, což dokazuje přítomnost indukčních chemických látek (Basu et al., 2017).

V kultuře oba MT aktivně vyhledávají partnera prostřednictvím řady zdánlivě náhodných pohybů (Scalco et al., 2016). Ani jeden MT nesekretuje atrakční feromony, u druhu *P. multistrata* tedy nedochází k chemotaxi (Marotta et al., 2022). Oba MT ovšem produkují feromony s jinými funkcemi. Při společné kultivaci si oba MT začnou postupně vyměňovat chemické signály, přičemž buňky MT^- jsou působením feromonů MT^+ sexualizovány – jejich

buněčný cyklus se zastaví v G1 fázi. V reakci na to MT^- zvýší množství vylučovaných sexuální signálů, aby podpořily sexualizaci MT^+ . Odpověď MT^+ na chemické signály je mnohonásobně menší, než odpověď u MT^- (Marotta et al., 2022). U buněk MT^- také probíhá meióza asi o 30 minut dříve (Scalco et al., 2016). MT^- tedy vykazuje mnohem větší změnu genové exprese, i vyšší produkci metabolitů oproti MT^+ (Basu et al., 2017; Fiorini et al., 2020; Annunziata et al., 2022).

Chemická podstata feromonů u *P. multistriata* stále není objasněna, Marotta et al. (2022) ovšem na základě experimentů předpokládají, že MT^+ feromony nebudou proteiny, protože neztratily svou biologickou aktivitu při zahřátí. MT^+ feromony jsou menší než 10 kDa a autoři předpokládají, že se bude jednat buď o menší peptidické molekuly, nebo chemické látky vzniklé sekundární cestou. U MT^- feromonů naopak předpokládají proteinovou strukturu, protože zahřátím svou biologickou aktivitu ztratily.

7. Vnější vlivy na pohlavní rozmnožování

Pohlavní rozmnožování může být snadno ovlivněno biotickými i abiotickými faktory. Jelikož feromony hrají velkou roli v pohlavním rozmnožování rozsivek, vlivem těchto faktorů může být ovlivněna jejich biologická aktivita. Toto může vést ke zpomalení či narušení množení, ale může rozmnožování i podpořit.

7.1. Velikost buněk

Jak bylo zmíněno výše, pohlavní rozmnožování je podmíněno SST, která je druhově specifická (Geitler, 1935). Po překročení SST se totiž výrazně změní genová exprese, která se liší u jednotlivých MT , které jsou během vegetativního množení prakticky nerozeznatelné. Začnou se exprimovat hlavně geny kódující feromony, či feromonové receptory, dále také geny připravující buňku na meiotické dělení (Basu et al., 2017; Belišová et al., 2024)

Kromě SST je ovšem u rozsivek důležitá kritická minimální velikost, kdy by další vegetativní dělení vedlo k buněčné smrti. U druhu *Seminavis robusta* bylo zjištěno, že MT^+ buňky blížící se k této kritické minimální velikosti vykazují chemoatrakci vůči atrakčnímu feromonu diprolinu i bez předchozí indukce feromonem SIP^- . U těchto buněk dochází k *self-primingu*, kdy nepotřebují SIP^- pro tvorbu diprolinových receptorů (Bondoc et al., 2019a). Přesný mechanismus *self-primingu* zatím není známý, stejně jako mechanismus, jakým rozsivky rozeznávají svou vlastní velikost. Je ale zřejmé, že právě kritická minimální velikost ovlivňuje úspěšnost rozmnožování. *Self-priming* totiž ilustruje případ, kdy je narušena feromonová kaskáda, která je u větších buněk nutná k indukci pohlavního rozmnožování, ale

přesto je rozmnožování úspěšné – lze tak vysvětlit vyšší úspěšnost množení u malých buněk (Chepurnov et al., 2002). Mechanismus *self-primingu* nebyl zatím objeven u jiného druhu rozsivky, ale lze se domnívat že podobné mechanismy u nich existovat budou.

7.2. Dostupnost živin

Dostupnost živin v prostředí je významným faktorem ovlivňujícím nejen pohlavní rozmnožování. Důležitou živinou je pro rozsivky křemík (Si), který je pro ně limitujícím faktorem pro dělení i rozmnožování, kvůli tvorbě nových křemičitých schránek (Martin-Jézéquel et al., 2000).

Bondoc et al. (2019a) provedli výzkum chování bentické *Seminavis robusta* v závislosti na přítomnosti Si v médiu. Přírodním prostředím *S. robusta* je totiž bentos – rozmanité životním prostředím s velmi silnými fluktuujícími gradienty živin. Bentické rozsivky tedy často vykazují chemotaxi či chemokinezi vůči zdroji živin, díky nimž mohou reagovat na fluktuující vlastnosti prostředí. Buňky *S. robusta* se spojením chemotaxe a chemokineze nepohybují jen při hledání partnera, ale také při hledání Si, či fosforu (P) když jej mají nedostatek (Bondoc et al., 2016b; Bondoc et al., 2019b). Bondoc et al. (2019a) ve svém výzkumu sledovali středně velké buňky (asi 40 μm , pod SST, ale mohou se ještě dělit vegetativně) a malé buňky (menší než 27 μm u nichž by dělení vedlo k buněčné smrti) v prostředí se zdrojem Si a atrakčního feromonu diprolinu. Porovnávali chování buněk s dostatkem Si a s nedostatkem Si v tomto prostředí. Z výzkumu vyplývá, že středně velké buňky jsou přitahovány k feromonu pouze při předchozí indukci SIP a za dostatku Si, v jiných případech raději vyhledávají zdroj Si. U malých buněk ovšem dochází k vyhledávání zdroje feromonu i bez indukce SIP, dochází u nich tedy k *self-primingu*. K tomuto jevu ovšem nedojde, pokud má buňka nedostatek Si – tehdy je třeba k vytvoření diprolinových receptorů SIP z prostředí. Pokud je malá buňka s nedostatkem Si indukována SIP, pohybuje se ke zdroji diprolinu, pokud ovšem není indukována pohybuje se ke zdroji Si.

Dostupnost zdroje Si, tedy významně ovlivňuje receptci atrakčního feromonu a buňky, které nemají dostatek živin nevyhledávají aktivně partnera na množení. Podobná studie by mohla být provedena u druhu *Cylindrotheca closterium*, u nějž se také vyskytuje atrakční feromon, protože lze předpokládat, že pro tento druh bude Si stejně limitujícím.

7.3. Interakce s bakteriemi

Rosivky a bakterie se vyskytují ve stejných habitatech už více než 200 milionů let, což v průběhu evoluce vedlo k rozvoji jejich vzájemných interakcí (Amin et al., 2012). Bakterie

ovlivňují u rozsivek produkci feromonů i pohlavní rozmnožování obecně (Cirri et al., 2018; Cirri et al., 2019). Feromony jsou často cílem interferenčních strategií. Organismy k sobě mohou díky feromonu přivést predátora, nebo kompetitoři mohou produkovat látku podobnou feromonu za účelem špatně navést organismus hledající partnera (Haynes & Yeargan, 1999).

S druhem *Seminavis robusta* byly provedeny dvě studie (Cirri et al., 2018; Cirri et al., 2019), ve kterých byl sledován vliv bakterií izolovaných z kultury *S. robusta* (*Maribacter* sp., *Roseovarius* sp., *Croceibacter* sp., *Marinobacter* sp.) na rozmnožování rozsivky. Pro porovnání byla použita axenická kultura *S. robusta* (čistá kultura bez jiných mikroorganismů. Při vysoké koncentraci bakterií (v poměru rozsivky:bakterie 1:1000, což odpovídá asi 10^6 buněk/ml) všechny výše zmíněné druhy bakterií úplně inhibují pohlavní rozmnožování, nedochází ani k párování MT (Cirri et al., 2018).

Croceibacter sp., *Marinobacter* sp. a *Maribacter* sp. v poměru 1:500 inhibují tvorbu gamet, ale nijak neovlivňují párování MT (Cirri et al., 2018). Bakterie totiž nijak neinterferují s efekty SIP (Cirri et al., 2019)–*Maribacter* sp. také inhibuje gametogenezi a auxosporulaci *S. robusta* až do poměru 1:100 (Cirri et al., 2018). Snižuje také produkci diprolinu u MT⁻ buněk. (Cirri et al., 2019). *Roseovarius* sp. při poměrech menších než 1:1000 neinhibuje pohlavní rozmnožování vůbec. Naopak za přítomnosti tohoto bakteriálního druhu vzniká více auxospor, než v axenické kultuře (Cirri et al., 2018). Zvyšuje syntézu diprolinu u MT⁻ (Cirri et al., 2019).

Všechny testované bakteriální druhy také degradují diprolin, který je jinak ve vodním prostředí stabilní a nedegraduje se (Cirri et al., 2018; Gillard et al., 2013). V kultuře bakterií s MT⁻ buňkami koncentrace diprolinu kolísá během dne, MT⁻ produkují diprolin nejvíce několik prvních hodin po osvětlení a poté jeho koncentrace postupně klesá (Gillard et al., 2013). Bakterie tedy diprolin degradují pouze když nemají k dispozici jiný zdroj uhlíku (Cirri et al., 2018).

U těchto druhů se jedná o chemicky zprostředkované interakce, bakterie a rozsivka tedy nemusí být v přímém kontaktu (Cirri et al., 2018). Jelikož inhibice rozmnožování také závisí na koncentraci bakterií v médiu rozsivek je otázkou, jak účinné jsou tyto inhibice v jejich přirozeném prostředí – mořském bentosu. Koncentrace mikroorganismů se v takto rozmanitém prostředí velmi těžko měří. Barranguet et al. (2005) odhadují, že bakterie tvoří 20 % biomasy bentosu a pokud je tento odhad správný jsou zkoumané koncentrace až 10^6 buněk/ml dosažitelné i v přírodě.

8. Závěr

Od doby kdy byl předložen důkaz existence feromonů u rozsivek uběhlo více než deset let (Sato et al., 2011). Přestože bylo provedeno mnoho studií zkoumajících feromony u několika druhů rozsivek, je poznání v této oblasti teprve v počátcích. Stále chybí jasné chemické struktury u feromonů *Cylindrotheca closterium* i *Pseudo-nitzschia multistriata*. Nelze tedy s jistotou říci, jestli se podobají feromonům druhu *Seminavis robusta*, ani do jaké míry jsou podobné feromonům chaluh či zelených řas. Zjištění chemické struktury feromonů a jejich biosyntézy druhů *C. closterium* a *P. multistriata* by také mohlo umožnit najít podobnosti v řádu Bacillariales (penátní rozsivky s kanálkovým typem rafe), do kterého se oba druhy řadí.

Druhu *Nanofrustulum trainorii*, u nějž byly feromony rozsivek poprvé detekovány se od té doby nikdo z ohledu feromonů nevěnoval. Nejsou tedy známy chemické struktury feromonů u tohoto druhu, ani mechanismy jejich fungování. Jelikož *N. trainorii* patří do jiné podtřídy, než ostatní druhy se známými feromony mohlo by být zajímavé jakým způsobem se liší mechanismy feromonové signalizace, či jejich struktury.

V tuto chvíli lze předpokládat, že feromony rafidních rozsivek (podtřídy Bacillariophycidae) jsou peptidické látky, odvozeny od aminokyselin, jelikož podobné struktury jsou předpokládány i u druhů u nichž nebyla přesná struktura feromonů objasněna (Gillard et al., 2013; Klapper, 2024; Klapper et al., 2023; Marotta et al., 2022). Svou strukturou se feromony liší od jiných známých infochemikálií, které rozsivky využívají. Zároveň jsou jedny z mála infochemikálií, které mají striktně infochemickou funkci, narozdíl od látek jako je DMSP nebo kyselina domoová (Graff Van Creveld et al., 2022; Kuhlisch et al., 2024).

Feromony rozsivek se také výrazně odlišují od feromonů hnědých řas, které stejně jako rozsivky patří do skupiny Heterokontophyta. Feromony hnědých řas jsou hydrofobními uhlovodíky odvozenými od mastných kyselin a liší se tedy nejen svou biosyntézou, ale i polaritou (Maier & Müller, 1986; Pohnert & Boland, 2002). Zatím známé feromony rozsivek se také liší od feromonů zelených řas, kterými jsou hlavně glykoproteiny (Frenkel et al., 2014; Sekimoto et al., 1990; Starr & Jaenicke, 1974).

Co se týče interference, či vnějších vlivů na feromonovou signalizaci rozsivek, jsou velké mezery ve výzkumu i po více jak 10 letech, kdy byly jejich feromony objeveny. Studie byly provedeny jen u druhu *S. robusta* a nelze tedy zatím vyvodit žádné obecné závěry. Nedostatečný výzkum v této oblasti může být samozřejmě podmíněn i neznalostí chemických struktur feromonů u jiných druhů. Dle mého názoru by ovšem mohla být velmi přínosná studie

zabývající se chemoatrakcí druhu *C. closterium* za nedostatku živin, především křemíku (podobná studii, kterou u *S. robusta* provedli Bondoc et al., 2019a). Vzhledem k tomu, že taková studie byla provedena u *S. robusta*, bylo by možné porovnat výsledky a zjistit jakým způsobem je v ohledu pohlavního rozmnožování křemík limitující i pro rozsivky, patřící do jiného řádu.

Použitá literatura

- Amin, S. A., Parker, M. S., & Armbrust, E. V. (2012). Interactions between Diatoms and Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 76(3), 667–684. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00007-12>
- Annunziata, R., Mele, B. H., Marotta, P., Volpe, M., Entrambasaguas, L., Mager, S., Stec, K., d'Alcalà, M. R., Sanges, R., Finazzi, G., Iudicone, D., Montresor, M., & Ferrante, M. I. (2022). Trade-off between sex and growth in diatoms: Molecular mechanisms and demographic implications. *Science Advances*, 8(3), eabj9466. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abj9466>
- Araújo, C. V. M., Diz, F. R., Moreno-Garrido, I., Lubián, L. M., & Blasco, J. (2008). Effects of cold-dark storage on growth of *Cylindrotheca closterium* and its sensitivity to copper. *Chemosphere*, 72(9), 1366–1372. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.04.022>
- Basu, S., Patil, S., Mapleson, D., Russo, M. T., Vitale, L., Fevola, C., Maumus, F., Casotti, R., Mock, T., Caccamo, M., Montresor, M., Sanges, R., & Ferrante, M. I. (2017). Finding a partner in the ocean: Molecular and evolutionary bases of the response to sexual cues in a planktonic diatom. *New Phytologist*, 215(1), 140–156. <https://doi.org/10.1111/nph.14557>
- Belišová, D., Bilcke, G., Audoor, S., D'hondt, S., Veylder, L. D., Vandepoele, K., & Vyverman, W. (2024). *Molecular fingerprints of cell size sensing and mating type differentiation in pennate diatoms*. <https://doi.org/10.1101/2024.04.15.589526>
- Bergström, G. (2007). Chemical ecology = chemistry + ecology! *Pure and Applied Chemistry*, 79(12), 2305–2323. <https://doi.org/10.1351/pac200779122305>
- Bilcke, G., Van den Berge, K., De Decker, S., Bonneure, E., Poulsen, N., Bulankova, P., Osuna-Cruz, C. M., Dickenson, J., Sabbe, K., Pohnert, G., Vandepoele, K., Mangelinckx, S., Clement, L., De Veylder, L., & Vyverman, W. (2021). Mating type specific

- transcriptomic response to sex inducing pheromone in the pennate diatom *Seminavis robusta*. *The ISME Journal*, *15*(2), 562–576. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00797-7>
- Bondoc, K. G. V., Heuschele, J., Gillard, J., Vyverman, W., & Pohnert, G. (2016b). Selective silicate-directed motility in diatoms. *Nature Communications*, *7*(1), 10540. <https://doi.org/10.1038/ncomms10540>
- Bondoc, K. G. V., Lembke, C., Lang, S. N., Germerodt, S., Schuster, S., Vyverman, W., & Pohnert, G. (2019a). Decision-making of the benthic diatom *Seminavis robusta* searching for inorganic nutrients and pheromones. *The ISME Journal*, *13*(2), 537–546. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0299-2>
- Bondoc, K. G. V., Lembke, C., Vyverman, W., & Pohnert, G. (2016a). Searching for a Mate: Pheromone-Directed Movement of the Benthic Diatom *Seminavis robusta*. *Microbial Ecology*, *72*(2), 287–294. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0796-7>
- Bondoc, K. G. V., Lembke, C., Vyverman, W., & Pohnert, G. (2019b). Selective chemoattraction of the benthic diatom *Seminavis robusta* to phosphate but not to inorganic nitrogen sources contributes to biofilm structuring. *MicrobiologyOpen*, *8*(4), e00694. <https://doi.org/10.1002/mbo3.694>
- Borthwick, A. D. (2012). 2,5-Diketopiperazines: Synthesis, Reactions, Medicinal Chemistry, and Bioactive Natural Products. *Chemical Reviews*, *112*(7), 3641–3716. <https://doi.org/10.1021/cr200398y>
- Brönmark, C., & Hansson, L.-A. (2000). Chemical Communication in Aquatic Systems: An Introduction. *Oikos*, *88*(1), 103–109.
- Cirri, E., De Decker, S., Bilcke, G., Werner, M., Osuna-Cruz, C. M., De Veylder, L., Vandepoele, K., Werz, O., Vyverman, W., & Pohnert, G. (2019). Associated Bacteria Affect Sexual Reproduction by Altering Gene Expression and Metabolic Processes in a

- Biofilm Inhabiting Diatom. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1790.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01790>
- Cirri, E., Vyverman, W., & Pohnert, G. (2018). Biofilm interactions—Bacteria modulate sexual reproduction success of the diatom *Seminavis robusta*. *FEMS Microbiology Ecology*, 94(11), fiy161. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy161>
- Clayden, J., Read, B., & Hebditch, K. R. (2005). Chemistry of domoic acid, isodomoic acids, and their analogues. *Tetrahedron*, 61(24), 5713–5724.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.04.003>
- Curson, A. R. J., Liu, J., Bermejo Martínez, A., Green, R. T., Chan, Y., Carrión, O., Williams, B. T., Zhang, S.-H., Yang, G.-P., Bulman Page, P. C., Zhang, X.-H., & Todd, J. D. (2017). Dimethylsulfoniopropionate biosynthesis in marine bacteria and identification of the key gene in this process. *Nature Microbiology*, 2(5), 17009.
<https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.9>
- Danielidis, D. B., & Mann, D. ??G. (2002). The systematics of *Seminavis* (Bacillariophyta): The lost identities of *Amphora angusta*, *A. ventricosa* and *A. macilenta*. *European Journal of Phycology*, 37(3), 429–448. <https://doi.org/10.1017/S0967026202003724>
- Dicke, M., & Sabelis, M. W. (1988). Infochemical Terminology: Based on Cost-Benefit Analysis Rather than Origin of Compounds? *Functional Ecology*, 2(2), 131.
<https://doi.org/10.2307/2389687>
- Fiorini, F., Borgonuovo, C., Ferrante, M. I., & Brönstrup, M. (2020). A Metabolomics Exploration of the Sexual Phase in the Marine Diatom *Pseudo-nitzschia multistriata*. *Marine Drugs*, 18(6), 313. <https://doi.org/10.3390/md18060313>
- Frenkel, J., Vyverman, W., & Pohnert, G. (2014). Pheromone signaling during sexual reproduction in algae. *The Plant Journal*, 79(4), 632–644.
<https://doi.org/10.1111/tpj.12496>

- Fukumoto, R., Fujii, T., & Sekimoto, H. (1997). Detection and evaluation of a novel sexual pheromone that induces sexual cell division of *Closterium ehrenbergii* (Chlorophyta). *Journal of Phycology*, 33(3), 441–445. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1997.00441.x>
- Garren, M., Son, K., Raina, J.-B., Rusconi, R., Menolascina, F., Shapiro, O. H., Tout, J., Bourne, D. G., Seymour, J. R., & Stocker, R. (2014). A bacterial pathogen uses dimethylsulfoniopropionate as a cue to target heat-stressed corals. *The ISME Journal*, 8(5), 999–1007. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.210>
- Geitler, L. (1935). Reproduction and life history in diatoms. *The Botanical Review*, 1(5), 149–161. <https://doi.org/10.1007/BF02870149>
- Gillard, J., Devos, V., Huysman, M. J. J., De Veylder, L., D'Hondt, S., Martens, C., Vanormelingen, P., Vannerum, K., Sabbe, K., Chepurinov, V. A., Inzé, D., Vuylsteke, M., & Vyverman, W. (2008). Physiological and Transcriptomic Evidence for a Close Coupling between Chloroplast Ontogeny and Cell Cycle Progression in the Pennate Diatom *Seminavis robusta*. *Plant Physiology*, 148(3), 1394–1411. <https://doi.org/10.1104/pp.108.122176>
- Gillard, J., Frenkel, J., Devos, V., Sabbe, K., Paul, C., Rempt, M., Inzé, D., Pohnert, G., Vuylsteke, M., & Vyverman, W. (2013). Metabolomics Enables the Structure Elucidation of a Diatom Sex Pheromone. *Angewandte Chemie International Edition*, 52(3), 854–857. <https://doi.org/10.1002/anie.201208175>
- Graff Van Creveld, S., Mizrachi, A., & Vardi, A. (2022). An Ocean of Signals: Intracellular and Extracellular Signaling in Diatoms. In A. Falciatore & T. Mock (Ed.), *The Molecular Life of Diatoms* (s. 641–678). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-92499-7_22

- Haynes, K. F., & Yeargan, K. V. (1999). Exploitation of Intraspecific Communication Systems: Illicit Signalers and Receivers. *Annals of the Entomological Society of America*, 92(6), 960–970. <https://doi.org/10.1093/aesa/92.6.960>
- Chepurnov, V. A., & Mann, D. G. (2004). Auxosporulation of *Licmophora communis* (Bacillariophyta) and a review of mating systems and sexual reproduction in araphid pennate diatoms. *Phycological Research*, 52(1), 1–12. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.2004.tb00309.x>
- Chepurnov, V. A., Mann, D. G., Sabbe, K., & Vyverman, W. (2004). Experimental Studies on Sexual Reproduction in Diatoms. In *International Review of Cytology* (Roč. 237, s. 91–154). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(04\)37003-8](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(04)37003-8)
- Chepurnov, V. A., Mann, D. G., Von Dassow, P., Vanormelingen, P., Gillard, J., Inzé, D., Sabbe, K., & Vyverman, W. (2008). In search of new tractable diatoms for experimental biology. *BioEssays*, 30(7), 692–702. <https://doi.org/10.1002/bies.20773>
- Chepurnov, V. A., Mann, D. G., Vyverman, W., Sabbe, K., & Danielidis, D. B. (2002). Sexual reproduction, mating system, and protoplast dynamics of *Seminavis* (Bacillariophyceae)¹. *Journal of Phycology*, 38(5), 1004–1019. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2002.t01-1-01233.x>
- Kaczmarek, I., Pouličková, A., Sato, S., Edlund, M. B., Idei, M., Watanabe, T., & Mann, D. G. (2013). Proposals for a terminology for diatom sexual reproduction, auxospores and resting stages. *Diatom Research*, 28(3), 263–294. <https://doi.org/10.1080/0269249X.2013.791344>
- Klapper, F. (2024). *Sexual reproduction in pennate diatoms: Physiology and chemistry of pheromones active in femtomolar concentration* [Friedrich-Schiller-Universität Jena]. <https://doi.org/10.22032/DBT.60746>

- Klapper, F. A., Kiel, C., Bellstedt, P., Vyverman, W., & Pohnert, G. (2023). Structure Elucidation of the First Sex-Inducing Pheromone of a Diatom. *Angewandte Chemie International Edition*, 62(43), e202307165. <https://doi.org/10.1002/anie.202307165>
- Klapper, F., Audoor, S., Vyverman, W., & Pohnert, G. (2021). Pheromone Mediated Sexual Reproduction of Pennate Diatom *Cylindrotheca closterium*. *Journal of Chemical Ecology*, 47(6), 504–512. <https://doi.org/10.1007/s10886-021-01277-8>
- Kuhlisch, C., Shemi, A., Barak-Gavish, N., Schatz, D., & Vardi, A. (2024). Algal blooms in the ocean: Hot spots for chemically mediated microbial interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 22(3), 138–154. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00975-2>
- Lembke, C., Stettin, D., Speck, F., Ueberschaar, N., De Decker, S., Vyverman, W., & Pohnert, G. (2018). Attraction Pheromone of The Benthic Diatom *Seminavis robusta*: Studies on Structure-Activity Relationships. *Journal of Chemical Ecology*, 44(4), 354–363. <https://doi.org/10.1007/s10886-018-0944-2>
- Lewis, W. M. (1984). The Diatom Sex Clock and Its Evolutionary Significance. *The American Naturalist*, 123(1), 73–80. <https://doi.org/10.1086/284187>
- Maier, I., & Müller, D. G. (1986). Sexual pheromones in algae. *The Biological Bulletin*, 170(2), 145–175. <https://doi.org/10.2307/1541801>
- Mann, D. G., & Vanormelingen, P. (2013). An Inordinate Fondness? The Number, Distributions, and Origins of Diatom Species. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 60(4), 414–420. <https://doi.org/10.1111/jeu.12047>
- Marotta, P., Borgonuovo, C., Santin, A., Russo, M. T., Manfellotto, F., Montresor, M., De Luca, P., & Ferrante, M. I. (2022). Mate Perception and Gene Networks Regulating the Early Phase of Sex in *Pseudo-nitzschia multistriata*. *Journal of Marine Science and Engineering*, 10(12), 1941. <https://doi.org/10.3390/jmse10121941>

- Martin-Jézéquel, V., Hildebrand, M., & Brzezinski, M. A. (2000). Silicon metabolism in diatoms: Implications for growth. *Journal of Phycology*, 36(5), 821–840. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2000.00019.x>
- McLachlan, D. H., Brownlee, C., Taylor, A. R., Geider, R. J., & Underwood, G. J. C. (2009). Light-induced motile responses of the estuarine benthic diatoms *Navicula perminuta* and *Cylindrotheca closterium* (Bacillatiophyceae)¹. *Journal of Phycology*, 45(3), 592–599. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00681.x>
- Medlin, L. K. (2016). Evolution of the diatoms: Major steps in their evolution and a review of the supporting molecular and morphological evidence. *Phycologia*, 55(1), 79–103. <https://doi.org/10.2216/15-105.1>
- Medlin, L. K., & Mann, D. G. (2007). (1783) Proposal to conserve the name *Cylindrotheca* against *Ceratoneis* (*Bacillariophyceae*). *TAXON*, 56(3), 953–955. <https://doi.org/10.2307/25065879>
- 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(6758), 173–176. <https://doi.org/10.1038/46023>
- Moeys, S., Frenkel, J., Lembke, C., Gillard, J. T. F., Devos, V., Van den Berge, K., Bouillon, B., Huysman, M. J. J., De Decker, S., Scharf, J., Bones, A., Brembu, T., Winge, P., Sabbe, K., Vuylsteke, M., Clement, L., De Veylder, L., Pohnert, G., & Vyverman, W. (2016). A sex-inducing pheromone triggers cell cycle arrest and mate attraction in the diatom *Seminavis robusta*. *Scientific Reports*, 6(1), 19252. <https://doi.org/10.1038/srep19252>
- Mori, K. (2007). Significance of chirality in pheromone science. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(24), 7505–7523. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.08.040>

- Müller, D. G., Boland, W., Jaenicke, L., & Gassmann, G. (1985a). Diversification of Chemoreceptors in Ectocarpus, Sphacelaria, and Adenocystis (Phaeophyceae). *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 40(5–6), 457–459. <https://doi.org/10.1515/znc-1985-5-630>
- Müller, D. G., Clayton, M. N., Gassmann, G., Boland, W., Marner, F.-J., Schotten, T., & Jaenicke, L. (1985b). Cystophorene and hormosirene, sperm attractants in Australian brown algae. *Naturwissenschaften*, 72(2), 97–99. <https://doi.org/10.1007/BF00508145>
- Müller, D. G., & Gassmann, G. (1980). Sexual hormone specificity in Ectocarpus and Laminaria (Phaeophyceae). *Naturwissenschaften*, 67(9), 462–463. <https://doi.org/10.1007/BF00405647>
- Olesen, A. J., Ryderheim, F., Krock, B., Lundholm, N., & Kiørboe, T. (2022). Costs and benefits of predator-induced defence in a toxic diatom. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 289(1972), 20212735. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.2735>
- Pawlowski, W. P., Sheehan, M. J., & Ronceret, A. (2007). In the beginning: The initiation of meiosis. *BioEssays*, 29(6), 511–514. <https://doi.org/10.1002/bies.20578>
- Pohnert, G., & Boland, W. (2002). The oxylipin chemistry of attraction and defense in brown algae and diatoms. *Natural Product Reports*, 19(1), 108–122. <https://doi.org/10.1039/A806888G>
- Prince, E., Irmer, F., & Pohnert, G. (2013). Domoic Acid Improves the Competitive Ability of Pseudo-nitzschia delicatissima against the Diatom Skeletonema marinoi. *Marine Drugs*, 11(7), 2398–2412. <https://doi.org/10.3390/md11072398>
- Ramsey, U. P., Douglas, D. J., Walter, J. A., & Wright, J. L. C. (1998). Biosynthesis of domoic acid by the diatom Pseudo-nitzschia multiseries. *Natural Toxins*, 6(3–4), 137–146. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1522-7189\(199805/08\)6:3/4<137::AID-NT28>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-7189(199805/08)6:3/4<137::AID-NT28>3.0.CO;2-L)

- Round, F. E., Crawford, R. M., & Mann, D. G. (1990). *The Diatoms: Biology & morphology of the genera*. Cambridge University Press.
- Russo, M. T., Vitale, L., Entrambasaguas, L., Anestis, K., Fattorini, N., Romano, F., Minucci, C., De Luca, P., Biffali, E., Vyverman, W., Sanges, R., Montresor, M., & Ferrante, M. I. (2018). MRP3 is a sex determining gene in the diatom *Pseudo-nitzschia multistriata*. *Nature Communications*, *9*(1), 5050. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07496-0>
- Sato, S., Beakes, G., Idei, M., Nagumo, T., & Mann, D. G. (2011). Novel Sex Cells and Evidence for Sex Pheromones in Diatoms. *PLOS ONE*, *6*(10), e26923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026923>
- Scalco, E., Amato, A., Ferrante, M. I., & Montresor, M. (2016). The sexual phase of the diatom *Pseudo-nitzschia multistriata*: Cytological and time-lapse cinematography characterization. *Protoplasma*, *253*(6), 1421–1431. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0891-5>
- Sekimoto, H. (2005). Plant Sex Pheromones. In *Vitamins & Hormones* (Roč. 72, s. 457–478). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(05\)72013-6](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(05)72013-6)
- Sekimoto, H., Satoh, S., & Fujii, T. (1990). Biochemical and physiological properties of a protein inducing protoplast release during conjugation in the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex. *Planta*, *182*(3), 348–354. <https://doi.org/10.1007/BF02411384>
- Seymour, J. R., Simó, R., Ahmed, T., & Stocker, R. (2010). Chemoattraction to Dimethylsulfoniopropionate Throughout the Marine Microbial Food Web. *Science*, *329*(5989), 342–345. <https://doi.org/10.1126/science.1188418>
- Shibl, A. A., Isaac, A., Ochsenkühn, M. A., Cárdenas, A., Fei, C., Behringer, G., Arnoux, M., Drou, N., Santos, M. P., Gunsalus, K. C., Voolstra, C. R., & Amin, S. A. (2020). Diatom modulation of select bacteria through use of two unique secondary metabolites.

- Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(44), 27445–27455.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2012088117>
- Smetacek, V. (2001). A watery arms race. *Nature*, 411(6839), 745–745.
<https://doi.org/10.1038/35081210>
- Starr, R. C., & Jaenicke, L. (1974). Purification and Characterization of the Hormone Initiating Sexual Morphogenesis in *Volvox carteri* f. *Nagariensis* Iyengar. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 71(4), 1050–1054.
<https://doi.org/10.1073/pnas.71.4.1050>
- Starr, R. C., Marner, F. J., & Jaenicke, L. (1995). Chemoattraction of male gametes by a pheromone produced by female gametes of *Chlamydomonas*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(2), 641–645. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.2.641>
- Stocker, R. (2012). Marine Microbes See a Sea of Gradients. *Science*, 338(6107), 628–633.
<https://doi.org/10.1126/science.1208929>
- Sumper, M., Berg, E., Wenzl, S., & Godl, K. (1993). How a sex pheromone might act at a concentration below 10^{-16} M. *The EMBO Journal*, 12(3), 831–836.
<https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1993.tb05723.x>
- Symonds, M. R. E., & Elgar, M. A. (2008). The evolution of pheromone diversity. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(4), 220–228. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.11.009>
- Vanormelingen, P., Vanellander, B., Sato, S., Gillard, J., Trobajo, R., Sabbe, K., & Vyverman, W. (2013). Heterothallic sexual reproduction in the model diatom *Cylindrotheca*. *European Journal of Phycology*, 48(1), 93–105.
<https://doi.org/10.1080/09670262.2013.772242>
- Vanstechelman, I., Sabbe, K., Vyverman, W., Vanormelingen, P., & Vuylsteke, M. (2013). Linkage Mapping Identifies the Sex Determining Region as a Single Locus in the

- Pennate Diatom *Seminavis robusta*. *PLoS ONE*, 8(3), e60132.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060132>
- 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040060>
- Von Quillfeldt, C. H., Ambrose, W. G., & Clough, L. M. (2003). High number of diatom species in first-year ice from the Chukchi Sea. *Polar Biology*, 26(12), 806–818.
<https://doi.org/10.1007/s00300-003-0549-1>
- Yool, A., & Tyrrell, T. (2003). Role of diatoms in regulating the ocean's silicon cycle. *Global Biogeochemical Cycles*, 17(4), 2002GB002018.
<https://doi.org/10.1029/2002GB002018>