Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie se zaměřením na vzdělávání
Studijní obor: Biologie se zaměřením na vzdělávání - Chemie se zaměřením na vzdělávání

Michaela Čuříková

Behaviorální obrana mořského fytoplanktonu proti virové infekci
Behavioral defense of marine phytoplankton against viral infection

Bakalářská práce

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

Praha, 2024

Poděkování

Touto formou bych chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce Mgr. Janě Kulichové, Ph.D. za její užitečné rady a poznámky, vřelý přístup a především čas, který mé práci i mně věnovala. Děkuji zároveň svému příteli, rodině a přátelům za psychickou podboru během psaní této práce.

Prohlášení:

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

V Praze, 7. 8. 2024

Podpis: Michaela Čuříková

ABSTRAKT

Kokolitky i rozsivky, patří mezi nejhojnější skupiny mořského fytoplanktonu a jsou významnými primárními producenty a součástmi biogeochemických cyklů. Obě dvě skupiny jsou navíc schopné biomineralizace a tvoří specifické schránky. Studie kokolitek a jejich virů jsou zaměřeny pouze na druh *Gephyrocapsa huxleyi* a rozsivek především na druhy rodu *Chaetoceros*. *Gephyrocapsa huxleyi* je známá především ve své diploidní formě, která nese na svém povrchu kalcifikované kokolity. Změnou ploidie (nebo alespoň fenotypu) tvoří ale i méně známou haploidní formu (nebo diploidní formu s haploidním fenotypem), která je schopná odolávat virové infekci. Rozsivky rodu *Chaetoceros* mají pro rozsivky typickou křemičitou schránku a diplontí životní cyklus. V přítomnosti virové infekce tvoří silnostěnné spory, které jsou odolné proti virové infekci a dokáží přečkat virovou nákazu do obnovení příznivých podmínek, při kterých klíčí, aniž by propukla nákaza.

Přestože se obrana proti virové infekci kokolitek a rozsivek v mnohém liší, například v typu virového genomu, účinnosti schránky v obraně proti infekci či v typu resistentní životní formy, najdeme mezi nimi i jisté podobnosti. Mezi analogie lze zařadit například vyvolaní změny životního cyklu viru z akutní lytické infekce na latentní formu. S tím souvisí přítomnost resistentních forem, které nejsou schopné odolávat vstupu viru do buňky, ale úspěšně zabraňují lyzi buňky, a tedy i uvolnění a šíření nových virionů. Dále mezi podobnosti patří také ovlivňování resistence bakteriální komunitou asociovanou s daným druhem fytoplanktonu. V neposlední řadě jsou si kokolitky a rozsivky společné nedostatečným zájem o studium virů a jejich podhodnocenost, co do počtu i významu.

Klíčová slova: behaviorální obrana, *Chaetoceros, Emiliania huxleyi virus*, fytoplankton, *Gephyrocapsa huxleyi*, kokolitky, rozsivky, virus, životní cyklus

ABSTRACT

Coccolithophorids and diatoms are among the most abundant groups of marine phytoplankton and are significant primary producers and components of biogeochemical cycles. Both groups are also capable of biomineralization and form specific shells. Studies of coccolithophorid and their viruses focus only on the species *Gephyrocapsa huxleyi*, while studies of diatoms mainly focus on species of the genus *Chaetoceros*. *Gephyrocapsa huxleyi* is primarily known in its diploid form, which carries calcified coccoliths on its surface. By changing ploidy (or at least phenotype), it also forms a less-known haploid form (or a diploid form with a haploid phenotype), which is capable of resisting viral infection. Diatoms of the genus *Chaetoceros* possess the typical siliceous shell of diatoms and have a diplontic life cycle. In the presence of viral infection, they form thick-walled spores that are resistant to viral infection and can survive the viral outbreak until favorable conditions are restored, during which they germinate without triggering the infection.

Although the defenses against viral infection in coccolithophorids and diatoms differ in many aspects, such as the type of viral genome, the effectiveness of the shell in preventing infection, or the type of resistant life form, there are certain similarities between them. Analogies include, for example, the induction of a change in the viral life cycle from acute lytic infection to a latent form. This is related to the presence of resistant forms that are not capable of preventing the entry of the virus into the cell but successfully prevent cell lysis, thereby stopping the release and spread of new virions. Furthermore, similarities include the influence of bacterial communities associated with the phytoplankton species on resistance. Lastly, coccolithophores and diatoms share the common issue of insufficient interest in the study of viruses and their underestimation in terms of number and significance.

Keywords: behavioral defense, *Chaetoceros*, coccolithophores, diatoms, *Emiliania huxleyi virus*, *Gephyrocapsa huxleyi*, life cycle, phytoplankton, virus

OBSAH

1. **ÚVOD** ... 1

2. **KOKOLITKY** ... 3

2.1 Základní charakteristika kokolitek ... 3

2.2 Obrana kokolitek ... 3

2.2.1 Obrana proti predátorům ... 3

2.2.2 Vztahy s bakteriemi ... 4

2.2.3 Obrana proti virům ... 4

2.2.4 Dynamika červené královny nebo něco jiného? ... 7

2.2.4 Faktory ovlivňující virovou infekci ... 11

2.3 Proč virové infekce studovat? ... 11

3 **ROZSIVKY** ... 12

3.1 Základní charakteristika rozsivek ... 12

3.2 Obrana rozsivek ... 12

3.2.1 Obrana proti predátorům ... 13

3.2.2 Vztahy s bakteriemi ... 13

3.2.3 Obrana proti virům ... 14

3.2.4 Faktory ovlivňující resistenci a dynamiku virové infekce ... 16

3.2.5 Dynamika červené královny nebo něco jiného? ... 18

3.3 Proč virové infekce studovat? ... 18

4 **POROVNÁNÍ** ... 20

4.1 Co vše ještě dodnes nevíme ... 23

4.1.1 Viry infikující kokolitky a rozsivky ... 23

4.1.2 Behaviorální obrana kokolitek a rozsivek proti virové infekci ... 24

4.1.3 Faktory ovlivňující resistenci kokolitek a rozsivek proti virové infekci ... 24

5 **ZÁVĚR** ... 25

6 **SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY** ... 26

1. ÚVOD

Viry jsou nejpočetnější biologickou entitou v mořských ekosystémech (Bergh et al., 1989) a napadají téměř všechny organismy od bakterií přes řasy, rostliny až po ryby či velké savce (Munn, 2006). Ačkoli je dnes již mezi vědeckými kruhy toto tvrzení všeobecně podporováno, ještě donedávna tomu tak nebylo (Brussaard, 2004).

Viry a jejich význam pro mořské ekosystémy byly mnoho let přehlíženy. Průlomovou prací se stal výzkum Karla-Heinze Moebuse, který v 80. letech minulého století přeplul Atlantský oceán od evropského kontinentálního šelfu po Sargasové moře. Během své plavby izoloval bakteriofágy a snažil se odhalit cykly jejich infekce (Moebus, 1980; Moebus & Nattkemper, 1981). Jeho práce, společně se zjištěním, že množství virů ve vodě je značně podhodnocené (Ortmann & Suttle, 2005), podnítila další výzkum, rozvoj technologií, metod izolace virů a sekvenování DNA. V neposlední řadě tyto poznatky umožnily také rozvoj výzkumu mořských virů jako samostatného tématu. Nicméně i přesto, že se výzkum mořských virů během několika posledních desítek let rapidně zvýšil, oproti jiným vědeckým sférám je prací zabývajících se daným tématem stále nedostatek (Brussaard, 2004).

Kromě mořských virů a jejich hostitelů jako takových se tématem výzkumu stává i role virů jako důležité složky mořských ekosystémů. Viry řídí mortalitu mnoha organismů či významně ovlivňují biogeochemické cykly, zejména uhlíku, dále také dusíku a fosforu či jiného prvku, specifického pro metabolismus hostitele, například křemíku u rozsivek (Dugdale & Wilkerson, 1998), čímž zásadně regulují globální produktivitu oceánů a složení fytoplanktonu (Fuhrman, 1999; Wilhelm & Suttle, 1999; Wommack & Colwell, 2000).

Fytoplanktonní společenstva jsou charakteristická určitou dynamikou tvořenou bilancí reprodukce a ztrát. Ta může být ovlivňována mnoha faktory od fyzikálních, jako například teplotou vody či intenzitou slunečního záření přes chemické představující například množstvím živin až po biologické interakce (Cloern, 1996). Různé působení těchto faktorů, které mnohdy současně představují zdroje, vyvolává mezi sinicemi a řasami kompetici, a ovlivňuje tak sukcesi jednotlivých druhů, která se u určitých skupin sinic a řas může projevit tzv. vodním květem. Jak již ale bylo zmíněno dynamiku netvoří pouze reprodukce, ale také ztráty. Ty jsou tvořeny vertikálním transportem mezi vrstvami vodního sloupce, označovaném jako klesání, disperzí v horizontálním směru, dále také požíráním zooplanktonem a lyzí buněk, zahrnující jak lyzi způsobenou přirozenou smrtí, tak virovou infekcí (Brussaard, 2004).

Proces, kterým se udržuje hustota populace, se nazývá hustotně závislý růst populace nebo také tzv. přirozená kontrola. Jedním z prostředků přirozené kontroly populace je právě virová infekce. V takovém případě chápeme kontrolu populace jako snížení abundance jedinců určité populace, která nastává většinou, když se populace nachází na hraniční hodnotě kapacity prostředí a její hustota začíná být problémová. Typickým příkladem může být ukončení vodního květu určité skupiny fytoplanktonu

specificky vázanými viry (Brussaard et al., 1996). Existují i důkazy o tom, že viry mohou mít v roli kontrolora spíše preventivní funkci. V praxi tak mohou více či méně úspěšně bránit tvorbě vodních květů (Suttle & Chan, 1994). Fakt, že u některých druhů fytoplanktonu tato preventivní kontrola funguje a u jiných ne, je důkazem toho, že některé řasy dokáží virové infekci odolávat nebo se jí dokonce vyhnout, a vybízí tedy k zamyšlení nad otázkou obrany fytoplanktonu proti virům (Brussaard, 2004).

Obecným předpokladem virové infekce je, že s rostoucím počtem jedinců hostitele roste i riziko infekce. Může tak dojít k tomu, že přestože jsou virové částice v populaci fytoplanktonu přítomny, k infekci nedojde, protože se prostou difúzi jednoduše virová částice s hostelem nesetká. S tím souvisí i parametr velikosti částic. Viry mají větší šanci se přichytit na povrch velké buňky, kterou představuje například fytoplankton, než na částice menší. V oceánu je ale při normálních podmínkách malých částic mnohonásobně více než velkých a ve výsledku je tak šance, že se virus srazí s malou částicí řádově vyšší, než že dojde ke srážce s částicí velkou (Brussaard, 2004). To platí zejména při podmínkách vodního květu. Pokud se fytoplankton rozmnoží, seskupí a dojde ke kvetení a překročení hranice četnosti, při které je již hustota hostitelských buněk tak vysoká, že se šance střetu virové částice a hostitelské buňky dostatečně zvýší, propukne infekce. Díky hustotě populace se infekce snadno šíří a velmi rychle a náhle klesá početnost dané populace (Brussaard, 2004). Dalšími faktory, které mohou ovlivňovat srážku virové částice s hostitelem je například pohyblivost či nepohyblivost dané formy fytoplanktonu. Pokud je buňka opatřena bičíkem a je schopná se pohybovat, roste tím logicky šance střetu s virovou částicí (Murray & Jackson, 1992).

Pro komplexnější pochopení problematiky virové kontroly fytoplanktonních společenstev je potřeba zabývat se kromě virové lyze také tím, co je spouštěčem virové infekce a následné replikace. Pro identifikaci těchto spouštěčů je třeba uvědomit si, že virová kinetika úzce souvisí s kinetikou svých hostitelů, a tak bude silně ovlivňována faktory prostředí, které ovlivňují právě hostitelské organismy, jako jsou například intenzita světla, teplota či množství živin. Například virus PBCV-1 (*Paramecium bursaria chlorella virus*) infikující zoochlorelly se při nedostatku světla i nadále replikuje, virus tedy není závislý na fotosyntéze hostitele, ale virový nárůst je v takových podmínkách snížen přibližně o polovinu (Van Etten et al., 1983).

Způsoby obrany proti predátorům či patogenům, včetně virů, lze obecně rozdělit na obranu změnou morfologie, do které by patřila například formace ostnů či zesílení buněčné stěny, změnou v biochemismu, tedy produkcí toxinů či alelopatických látek nebo obranu behaviorální, tedy obranu změnou chování. Za behaviorální obranu můžeme označit například přechod do jiné fáze životního cyklu, tvorbu cyst (Van Donk et al., 2011) nebo jiné formy únikové reakce (Hansson, 2000; Pančić & Kiørboe, 2018). Nicméně jedná se o komplexní téma, dané kategorie jsou pouze uměle vytvořené a nelze je od sebe striktně oddělit.

Cílem práce bude na základě strategie obrany proti svým virům porovnat dvě skupiny mořského fytoplanktonu, kokolitky (coccolithophorids) a rozsivky (diatoms). Obě skupiny řas jsou důležitou složkou mořského fytoplanktonu a také významně ovlivňují biogeochemické cykly, díky schopnosti biomineralizace (Benoiston et al., 2017; Balch, 2018). Práce bude rozdělena do dvou částí. V první části práce bude stručně shrnuta interakce mezi vybranými druhy a viry je napadajícími, přičemž detailněji bude rozvedena část týkající se obrany proti infekci. V druhé části práce pak bude na základě několika kritérií porovnána strategie obrany obou skupin řas.

2. KOKOLITKY

2.1 Základní charakteristika kokolitek

Kokolitky jsou jednobuněčné řasy řazené mezi haptofyta a představují významnou skupinu mořského fytoplanktonu. Své jméno získaly díky destičkám z uhličitanu vápenatého nazývaným kokolity, které pokrývají jejich povrch a vytváří tak vnější skelet zvaný kokosféra (Paasche, 2001).

Nejběžnějším a také modelovým druhem kokolitek, nejen pro výzkum virové infekce, je *Gephyrocapsa* (*Emiliania) huxleyi*, vyskytující se převážně v mírných až subpolárních oblastech, ve kterých za příznivých podmínek při pobřeží vytváří vodní květy (Holligan et al., 1983). *G. huxleyi* je atypická oproti ostatním kokolitkám tím, že uvolňuje ze svého povrchu kokolity do okolního prostředí. Během vodních květů, a zejména pak při jejich zániku, jsou přitom do okolní vody masivně uvolňovány jak organické, tak anorganické látky, jako například $CaCO_3$ v kokolitech, který je v tomto období díky své přirozené odrazivosti viditelný ze satelitních snímků jako mléčný zákal (Brown & Yoder, 1994; Tyrrell et al., 1999; Tyrrell & Merico, 2004). Wilson et al., (2002) na základě dat získaných při měření početnosti fytoplanktonu, bakterií, virů a kokolitů v mořských zónách s vysokou odrazivostí a normální odrazivostí jasně označil za příčinu zániku kvetoucích populací infekci viry. Zatímco v zónách s normální odrazivostí nad viry převládala populace *G. huxleyi*, v zónách s vysokou odrazivostí byly buňky *G. huxleyi* lyzované a převažovaly odloučené kokolity a viry.

2.2 Obrana kokolitek

V úvodu práce byly identifikovány některé proměnné ovlivňující úspěšnost či neúspěšnost virové infekce jako například velikost buňky, hustota populace či pohyblivost. V souvislosti s kokolitkami je ovšem nutné uvážit i jiné, pro ně specifické faktory. Nejtypičtějším z nich je jednoznačně již zmiňovaná kalcifikace a tvorba kokolitů. Logicky by šlo předpokládat, že kokolity budou kokolitkám poskytovat určitou formu mechanické obrany patogenům. Experimentální data a pozorování jsou ale nejednoznačná (Harris, 1994; Green et al., 1996; Kolb & Strom, 2013).

2.2.1 Obrana proti predátorům

Pokud se zaměříme na spásání zooplanktonem, jsou jasné důkazy, že například pro klanonožce nepředstavuje spásání kalcifikovaných forem *G. huxleyi* výraznější obtíže (Harris, 1994). Výjimku

mohou částečně představovat například vysoce tvarově modifikované kokolity některých čeledí, které například mají přívěsky, ostny či jsou výrazně prodlouženy (Young et al., 2009). U nálevníků byla pozorována snížená rychlost trávení při požírání diploidního stádia *G. huxleyi* (Kolb & Strom, 2013). U obrněnek byla rychlost trávení kokolitek snížena až o 60 % a dokonce byla pozorována pomalejší rychlost růstu u jedinců živících se kalcifikovanými kmeny *G.huxleyi* oproti těm, živícím se nekalcifikovanými kmeny (Harvey et al., 2015). Tento fakt může být vysvětlen nestravitelností anorganických kokolitů, které z diploidního stádia *G. huxleyi* dělají nekvalitní zdroj potravy. Přesto se během výzkumu v trávicích vakuolách nálevníků našlo více *G. huxleyi* v diploidním stavu, než ve stavu haploidním, tedy naopak, než by se dalo předpokládat. Jako nejpravděpodobnější vysvětlení vnímají autoři článku existenci určitého obraného mechanismu haploidního stádia, nejspíše na chemické bázi, který z něj dělá nevýhodnou potravu (Kolb & Strom, 2013).

2.2.2 Vztahy s bakteriemi

Za zmínku stojí i interakce kokolitek s bakteriemi. Obecně lze bakteriální komunitu asociovanou s *G. huxleyi* označit za druhově bohatou s interakcemi od mutualismu až po parazitismus (Green et al., 2015). Zajímavým příkladem může být soužití *G. huxleyi* s *Phaeobacter gallaeciensis*. Zatímco řasa poskytuje bakterii uhlík a síru z DMSP, bakterie produkuje antibiotika a auxiny, které naopak podporují růst řasy. Tento vztah, se ale může měnit. V momentě, kdy *G. huxleyi* přechází do stádia senescence, produkuje kyselinu p-kumarovou. Na tu reaguje *P. gallaeciensis* produkcí škály sekundárních metabolitů, mimo jiné silných algicidů zvaných roseobakticidy, čímž působí na řasu patogenně. Tento přechod z mutualismu na parazitismus byl označen za Jekyll-Hyde přechod (Seyedsayamdost et al., 2011).

Bakterie s fytoplanktonem spolu navíc komunikují pomocí difúzních chemických signálů. Tento jev označujeme jako senzorickou komunikaci (quorum sensing) (Hmelo, 2017). Bakteriální signál přenášený molekulou 2-heptyl-4-chinolon (HHQ) reversibilně zastavuje buněčný cyklus *G. huxleyi*. Tím sice zastaví například buněčný růst, ale, jak demonstrovali Pollara et al. (2021), dokáže zastavit i průběh virové infekce a oddálit tak lyzi napadené buňky. Výsledky naznačují, že by HHQ signál mohl zasahovat do syntézy nukleotidů potřebné k úspěšné virové replikaci.

Výsledky studií dokazují, že vztahy mezi kokolitkami a jejich predátory a bakteriemi jsou velmi komplexní. Stejně komplexní, ne-li ještě složitější jsou však jejich vztahy s viry.

2.2.3 Obrana proti virům

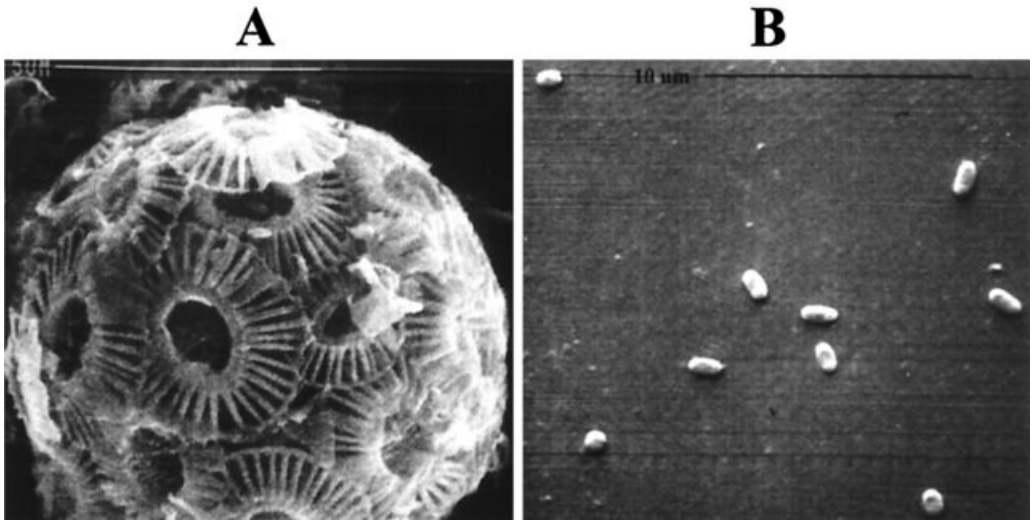
Virová infekce kokolitky *Gephyrocapsa huxleyi* je připisována dvouvláknovému (ds)DNA viru *Emiliania huxleyi virus* (*EhV*) patřícímu do čeledi zvané *Phycodnaviridae* (Schroeder et al., 2002). Ta byla označena jako samostatná čeleď po zkoumání a sekvenování *Paramecium bursaria chlorella virus* (PBCV- 1) (Van Etten & Meints, 1999; Van Etten et al.,2002). Postupně bylo zjištěno, že do čeledi ve skutečnosti patří rozmanitá sbírka velkých ikosahedrických (ds)DNA (160-560 kb) virů. Obecně lze o

virech napadajících řasy říci, že jsou velmi hostitelsky specifické a napadají pouze určité rody, někdy dokonce pouze vybrané kmeny, proto bylo pro tyto viry vyčleněno šest rodů pojmenovaných podle svých hostitelů (Van Etten et al., 2002; Dunigan et al., 2006). Je navíc vysoce pravděpodobné, že společně s novými výzkumy a podrobnějším popisem izolátů se celá čeleď *Phycodnaviridae* rozrůzní natolik, že se rozpadne na několik podčeledí (Wilson et al., 2009).

Genom *EhV* byl sekvenován již v roce 2005, což vedlo k řadě důležitých poznatků. Mimo jiné sekvenace odhalila geny pro syntézu ceramidu vyvolávajícího apoptózu či existenci promotoru a RNA polymerázy. Tyto objevy naznačují, že by virus mohl kódovat svůj vlastní transkripční aparát (Wilson et al., 2005). Také bylo zjištěno, že *EhV* má obal odvozený od membrány *G. huxleyi* a výrazně zasahuje do metabolické dráhy lipidů svého hostitele a mění jeho tzv. lipodom, tedy souhrn všech lipidů v buňce. Minimálně v ranných stádiích infekce vyvolává syntézu nenasycených triacylglycerolů (Malitsky et al., 2016), potlačuje produkci hostitelských glykosfigolipidů a naopak propaguje syntézu vlastních virových glykosfingolipidů, které mohou být následně včleněny do membrány hostitele. Viroidy tak mohou buňky opouštět obalené v membráně odvozené od hostitele s již začleněnými virovými glykosfigolipidy. A právě vyhnutí se syntézy těchto specifických lipidů změnou metabolismu je jeden z navrhovaných způsobů resistence (Rosenwasser et al., 2014). U resistentních buněk *G. huxleyi* byl pozorován upravený metabolismus, při kterém byla ztlumena až úplně zastavena syntéza terpenů a sterolů, na jejichž syntéze hostitelem jsou viry zcela závislé. Viry tímto způsobem přichází o přístup k terpenoidům, které bývají jinak začleněné v hostitelské membráně a následně i ve virovém obalu, a tím ztrácí schopnost uvolňovat se z buňky (Rosenwasser et al., 2014). Podobný princip resistence byl identifikován například i u buněk odvozených od kostní dřeně, které se snížením syntézy cholesterolu staly resistentní vůči lidskému cytomegaloviru (Blanc et al., 2011), avšak v mořském prostředí se jedná o dosud nepozorovanou strategii (Rosenwasser et al., 2014).

Již na počátku 20. století byly ve vzorcích *G. huxleyi* objeveny kromě již zmíněných kalcifikovaných forem další nekalcifikované buňky, které byly označeny za kalcifikovaným *G. huxleyi* příbuzné. Nicméně stále se přesně nevědělo, jaký mezi nimi panuje vztah (Lohnmann, 1902). Až v 90. letech 20. století bylo zjištěno, že *G. huxleyi* má, stejně jako většina ostatních zástupců Haptophyt, poměrně složitý haplo-diplontní životní cyklus a že kalcifikace či nekalcifikace odpovídá právě ploidii dané buňky (Obrázek 1). Může se vyskytovat ve třech životních formách: jako kalcifikovaná nepohyblivá diploidní buňka s kokolity (C-buňka), jako nahá nekalcifikovaná nepohyblivá diploidní buňka (N-buňka) nebo jako nekalcifikovaná pohyblivá haploidní buňka s organickými šupinami (S-buňka) (Klaveness, 1971; Green et al., 1996; Laguna et al., 2001). Zejména haploidní stádium je ovšem mikroskopickou technikou velmi

špatně pozorovatelné a bylo tedy dlouhou dobu přehlíženo, proto byla jeho ekologická role a celkově význam tohoto pohlavního cyklu u *G.huxleyi* dlouho neznámá (Frada et al., 2008).



Obrázek 1 (převzato z Laguna et al., 2001): Snímky *Gephyrocapsa huxleyi* ze skenovacího elektronového mikroskopu. (A) Nepohyblivá kalcifikované buňky (C-buňky) s hrubě se překrývajícími kokolity, (B) Pohyblivé nekalcifikované buňky (S-buňky) s organickými šupinami těsně naléhajícími na buněčnou membránu.

Poměrně průlomovou prací zabývající se charakterem interakce *G.huxleyi* a *EhV* byla studie Frada et al. (2008), která přinesla několik zásadních zjištění. Prvním z nich bylo, že haploidní a diploidní stádia *G.huxleyi* jsou rozdílně citlivé k infekci *EhV*. Zatímco diploidní formy jsou celkem pravidelně a úspěšně virem napadány, haploidní formy jsou vůči infekci resistentní. Dalším zjištěním bylo, že infekce diploidní formy *G.huxleyi* může spustit meiózu a tedy přechod na haploidní resistentní formu. Co ale způsobuje tuto rezistenci?

Jednotlivé formy se liší strukturou buněčného povrchu. Diploidní kalcifikované buňky mají na svém povrchu jednu nebo dvě volné vrstvy propletených kokolitů a netvoří organické šupiny na povrchu své cytoplasmatické membrány, tak jako jiné kokolitky. Naopak u haploidních buněk můžeme najít jenom tyto jemné organické šupiny, které těsně obalují cytoplasmatickou membránu v překrývajících se vrstvách, ale postrádají vnější kalcifikované kokolity (Klaveness, 1971a; Green at al., 1996). A právě toto efektivnější překrytí povrchu cytoplasmatické membrány, a tedy i zakrytí specifických receptorů potřebných pro stup viru do buňky, by mohlo představovat jeden z faktorů vysvětlujících resistenci haploidních forem oproti diploidním formám *G. huxleyi* (Green et al., 1996).

Přechod mezi fázemi mohou ovlivňovat různé biotické i abiotické faktory prostředí. Jak již bylo zmíněno, přímé vystavení diploidních buněk *G.huxleyi* viru spustilo přeměnu na haploidní formu. Během vystavení *G.huxleyi* viru byly pozorovány vyšší koncentrace reaktivních forem kyslíku (ROS) (Evans et al., 2006). ROS jsou známé tím, že mohou spouštět programovanou buněčnou smrt (Bidle et al., 2007), ale mohou vyvolat také přechod mezi životními fázemi, podobně jako tomu je například

u mnohobuněčné řasy *Volvox carteri* (Kirk & Kirk, 1986; Nedelcu & Michod, 2003) a mohlo by tomu tak být i v tomto případě. Alternativním vysvětlením by byla trvalá přítomnost velmi malého, klasickými metodami nedetektovatelného množství haploidních buněk vznikajících meiózou v kulturách dominovaných diploidními buňkami. Haploidní buňky by přitom sloužily jako inokulum pro obnovení celé haploidní populace, která vzniká až při infekci citlivých diploidních buněk a resistentní haploidní formy jsou tak zvýhodněny. Tuto teorii by mohlo podpořit pozorování, při kterém kultura složená z populace diploidních buněk a kultura, ve které byly smíchány diploidní a haploidní formy, vykazovaly při virové infekci podobnou dynamiku růstu (Frada et al., 2008).

Zajímavé je, že pouze kalcifikované diploidní formy *G. huxleyi* tvoří rozsáhlé květy, přestože jsou citlivé k virové infekci, která většinou končí rozpadem buněk celé diploidní části populace (Tyrrell & Merico, 2004; Martínez et al., 2007). Dalo by se tedy předpokládat, že selekce bude působit pro vylepšování obranných mechanismů a zamezení infekce na úkor růstové rychlosti. *G. huxleyi* se nicméně v evoluci vydala jinou cestou. Selekce probíhá poněkud překvapivě ve směru zvýšení růstové rychlosti. Čím více diploidních buněk vznikne mitózou, tím více haploidních buněk může následně vzniknout meiózou při virové infekci a tím větší je šance *G. huxleyi* před virem uniknout. Tato strategie je přitom závislá na resistenci haploidního stádia proti *EhV*, protože pohyblivé haploidní buňky mají jinak vyšší šanci setkat se s virovou částicí (Murray & Jackson, 1992), kterých je navíc na konci lytické fáze, kdy haploidní buňky vznikají, ve vodě nejvyšší počet (Wilson et al., 2002). Takto se ale pro viry stanou prakticky neviditelné. Zároveň haploidní buňky nefungují pouze jako gamety, které by se při prvním setkání s jinou haploidní buňkou spojily za vzniku diploidní. Takové splynutí by se totiž nejspíše uskutečnilo ještě v prostředí s vysokou hustotu virů, kde by mohlo dojít k opětovné infekci diploidního stádia. Haploidní buňky proto v tomto stavu setrvávají déle, dělí se a migrují a teprve posléze v příznivějších podmínkách dávají vzniku diploidním buňkám (Frada et al., 2008).

2.2.4 Dynamika červené královny nebo něco jiného?

Pozorovaná životní strategie *G.huxleyi* se v mnohém liší od evoluční strategie „závodů ve zbrojení" (Frada et al., 2008), kterou poprvé navrhl Van Valen (1973). Dnes bývá strategie „závodů ve zbrojení„ označována také jako strategie „Red queen" (RQ) neboli strategie „červené královny" [1]. Aplikace této teorie na životní strategii *G. huxleyi* by vedla k závěru, že obranným mechanismem je v tomto případě sexuální rozmnožování, kdy virová infekce podporuje meiózu. V následující generaci by se tím pádem zvýšila diversita a tedy i šance na výskyt jedinců odolnějších proti infekci. Skutečnost že *EhV* infikuje jen některé kmeny v kultuře diploidní *G.huxleyi* (Schroeder et al., 2002) by tuto interpretaci mohla podporovat. Podle dynamiky RQ by se postupem času vytvořily subpopulace *G. huxleyi* a *EhV*, které by

[1] Překlad tohoto pojmu do češtiny přitom bývá problematický. Šachová královna je černá, anglicky se ale označuje jako červená, proto bývá RQ hypotéza chybně překládána jako „Hypotéza červené královny", přestože by se mělo jednat o „Hypotézu černé královny" (Flegr et al., 2003). Vzhledem k tomu, že se ale pojem „Hypotéza červené královny" stihl za roky nepřesného překladu zažít, bude v této práci královna označena klasicky jako červená.

se lišily v genech ovlivňující právě resistenci a schopnost infikovat buňku. Nicméně během několikaletých experimentálních studiích v norských fjordech nebyla pozorována odpovídající variace v diploidních genotypech *G. huxleyi* (Martínez et al., 2007). Toto pozorování společně s již zmíněnou stálostí vysoké růstové rychlosti svědčí o tom, že zde musí existovat jiná efektivnější strategie, která zajišťuje přežití těchto relativně konzervativních genotypů.

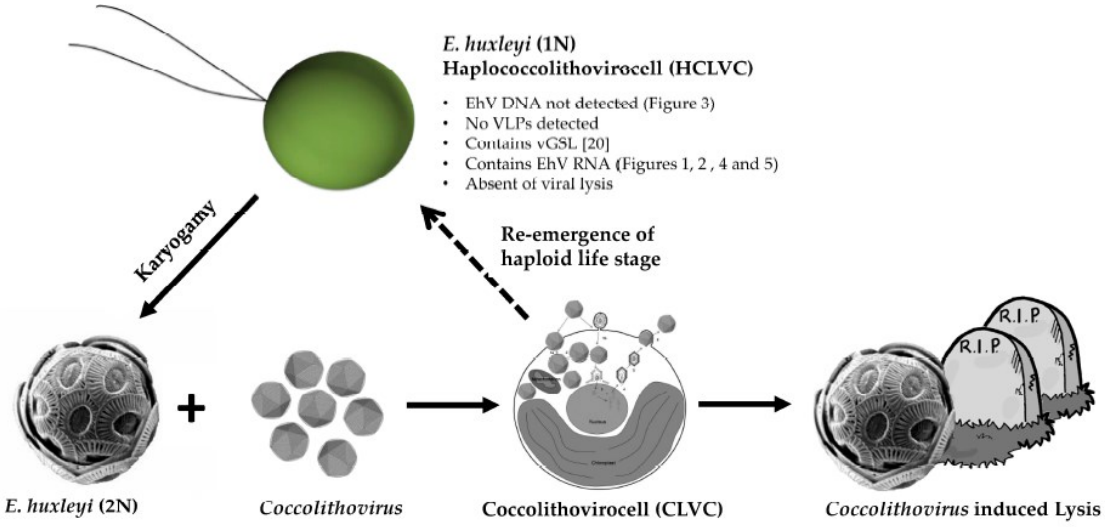
Tato alternativní dynamika by působila proti klasické vysoce dynamické strategii červené královny a spíše dynamiku hostitel-patogen zpomalovala. Možnost vyhnout se virové infekci tím, že se *G. huxleyi* změní na „neviditelnou" haploidní formu umožní, aby citlivá diploidní fáze nemusela své zdroje soustředit na obranu, ale na svou přímou ekologickou konkurenceschopnost. V souvislosti se strategií RQ se tak mluví o strategii „kočky Šklíby" neboli „Cheshire Cat" (CC) z Carrollovy knihy Alenka v říši divů, která díky schopnosti nechat zmizet své tělo znemožnila vykonat rozsudek „setněte mu hlavu". Kdybychom toto přirovnání aplikovali na *G.huxleyi*, diploidní část populace, pro virus viditelná, by představovala šklebící se hlavu kočky Šklíby, zatímco haploidní část by představovala její tělo pro virus neviditelné (Frada et al., 2008).

Obě tyto strategie se točí kolem sexuálního rozmnožování a nemusí se nutně vylučovat. Strategie kočky Šklíby odděluje meiózu a splynutí haploidních buněk v čase či prostoru. Díky tomu se hostitel zbaví tlaku patogenu a může se tak evolučně prosazovat jinými směry. Evoluce na úrovni resistence *G. huxleyi* a infekčnosti *EhV* přitom stále probíhá, ale mnohem pomalejším tempem. Studie například odhalily, že se *G. huxleyi* brání již zmíněné produkci ROS uvolňováním dimethylsulfoniopropionátu (DMS) a kyseliny akrylové, které tyto reaktivní formy kyslíku poměrně účinně vychytávají (Evans et al., 2007). *EhV* se přitom brání produkcí v glykosfingolipidů schopných manipulovat metabolismem hostitele a možná i indukovat programovanou buněčnou smrt (Vardi et al., 2009).

Zcela nové poznatky přinesla studie Mordecai at el. (2017), při které byly identifikovány infikované haploidní buňky s virovým RNA transkriptomem, ale bez virové DNA, u kterých infekce nekončila lyzí buňky. Takové buňky označeny jako „haplokokolitovirobuňka" (haplococcolithovirocell) byly resistentní a infikované zároveň, jinými slovy virus nezpůsoboval jejich lyzi (Obrázek 2). Autor tento stav, ve kterém se buňka nachází, připodobnil k Schrödingerově kočce, která byla současně živá i mrtvá, stejně tak jako byla tato buňka *G.huxleyi* infikovaná a resistentní zároveň. Tuto modelovou Schrödingerovu kočku zkombinoval s již existující Kočkou Šklíbou za vzniku tzv. „Schrödingerovy kočky Šklíby" (Mordecai et al., 2017). Haplokokolitovirobuňky přitom obsahují kromě virové RNA také virové lipidy. Ty by mohly sloužit jako zásobárna již zmíněných virových glykosfigolipidů, mezi infekčními cykly *EhV* a tím viru přinášet evoluční výhodu (Hunter et al., 2015).

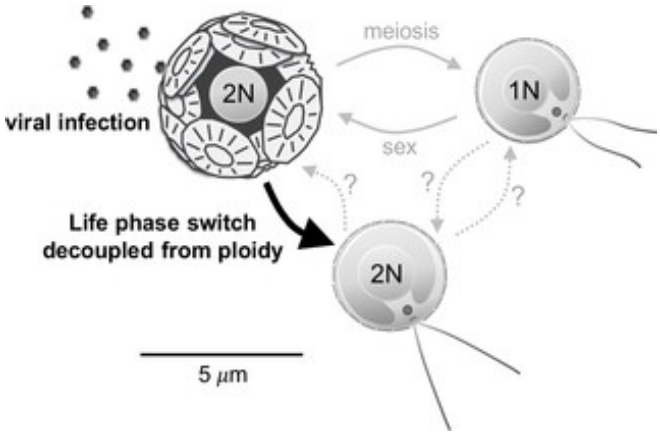
Podobnou strategii můžeme pozorovat například u virů napadajících chaluhy, které na rozdíl od ostatních virů s typickou r-strategickou akutní lytickou infekcí, zvolili K-selektovanou životní strategii. Tyto viry integrují svou virovou DNA do haploidní či diploidní životní fáze hostitele ve formě latentního

proviru (Stevens et al., 2014). Přestože v infikovaných haploidních buňkách *G. huxleyi* oproti infikovaným buňkám chaluh nenajdeme virovou DNA, lze si povšimnout několika podobností. Především změny životní strategie *EhV* z působení akutní infekce na dlouhodobější latenci, během které by virus mohl prodělávat sekundární životní cyklus v infikovaných haploidních buňkách.



Obrázek 2 (převzato z Mordecai et al., 2017): Infikovaná diploidní buňka *G.huxleyi* (coccolithovirocell, CLVC) může podlehnout virem indukované lyzi nebo se může znovu objevit jako infikovaná haploidní buňka (haplococcolithovirocell, HCLVC) nepodléhající virové lyzi.

Studie Frada et al. (2017) přinesla další přehodnocení pozorovaného jevu. Při jejich výzkumu byla odhalena existence buněk, které byly odolné vůči EhV a byly fenotypově podobné haploidním. Měly organické šupiny, byly pohyblivé, ale ve skutečnosti byly diploidní (Obrázek 3). Předpokládá se, že diploidní buňky v tomto stavu setrvávají pouze v období stresu, a poté mohou meiózou přejít do haploidního stavu nebo změnou fenotypu zpět do kalcifikované nepohyblivé formy. Fenotyp *G. huxleyi* tak nejspíše není vázán s ploidií tak pevně, jak jsme si doposud mysleli a změna ploidie a fenotypu může být oddělena od sexuálního rozmnožování a připomínat spíše apomixii. Nejspíše existuje účinný resistentní fenotyp podobný haploidní formě, který odsud neznámým mechanismem odolává viru *EhV* (Frada et al., 2017).



Obrázek 3 (převzato z Frada et al., 2017): Životní cyklus *Gephyrocapsa huxleyi* - nové upravené schéma Cheshire Cat dynamiky interakce druhu *G. huxleyi* a *EhV*. Kalcifikované diploidní buňky mohou v případě virové infekce produkovat bičíkaté buňky s haploidním fenotypem za současného zachování ploidie.

Jak ukázala nejnovější studie Bousquet et al. (2024) stav diploidní buňky s haploidním fenotypem je reversibilní a buňka může v nepřítomnosti virového tlaku přecházet zpět do kalcifikované formy. Tato změna ale nastává pouze u malé části nekalcifikované diploidní populace. Stejný přechod z resistentní formy do původního fenotypu můžeme pozorovat i u jiných řas, konkrétně například i u rozsivek, kterým se bude detailněji věnovat druhá část této práce a které jsou schopny přecházet v příznivých podmínkách bez přítomnosti viru z rezistentních spor zpět do vegetativního typu buňky (Pelusi et al., 2021). To, že se buňky *G. huxleyi* navrací do původního kalcifikovaného fenotypu navíc naznačuje, že existují určité náklady pro bičíkatou diploidní buňku na to, aby udržela haploidní fenotyp. U bičíkatých diploidních buněk byla zaznamenána nižší růstová rychlost a snížená schopnost regenerovat energii. Takové buňky jsou tedy pravděpodobně energeticky velmi nevýhodné (Bousquet et al., 2024). Studie Bousquet et al. (2024) také odhalila, nepřítomnost sialových glykosfingolipidů v resistentních bičíkatých diploidních buňkách, stejně jako v resistentních haploidních buňkách. Sialové glykosfingolipidy mají mimo jiné zásadní roli při biosyntéze kokolitů, slouží jako ligandy pro vstup viru do buňky a jsou přítomné v citlivých kalcifikovaných diploidních buňkách (Hunter et al., 2015), což by mohlo vysvětlovat podstatu této únikové strategie.

Pozorování Frada et al. (2017) neodpovídá původní představě o schématu Kočky Šklíby ani upravenému schématu Schrödingerovy kočky Šklíby, přestože při jejich porovnání můžeme najít jisté analogie. Diploidní resistentní buňka by asi mohla odpovídat přechodu mezi CVCL a HCVCL. Nicméně studie Frada et al. (2017) se explicitně nezmiňuje o tom, že by tato diploidní buňka již byla infikovaná a odolávala by infekci. Zároveň studie Mordecai et al. (2017) nepopisuje přítomnost resistentní diploidní formy. Problémem je, že každá studie se zaměřuje na pozorování kokolitek trochu jiným způsobem. Frada et al. (2017) se zaměřuje spíše na morfologii a ploidii resistentních buněk, zatímco Mordecai et al. (2017) zkoumá koexistenci virových složek s resistentní buňkou na molekulární úrovni. Pro plné

pochopení životního cyklu *G.huxleyi* i *EhV* bude tak potřeba v budoucích studiích zohlednit oba dva přístupy a jejich kombinaci.

2.2.5 Faktory ovlivňující virovou infekci

Studie Thamatrakoln et al. (2019) sledovala jak světlo ovlivňuje metabolismus *G.huxleyi* a interakci hostitel-virus. Zjistilo se, že světlo bylo nezbytné pro uchycení viru k buňce hostitele a při přidání EhV k buňkám *G. huxylei* v temnu, byla adsorpce, a tedy i infekce minimální. Také, bylo možné pozorovat nejintenzivnější produkci virových částic během neustálého a intenzivního ozáření buněk hostitelské *G. huxleyi*.

Zajímavým zjištěním bylo také, že zvýšení teploty vyvolává u buněk *G. huxleyi* citlivých k infekci *EhV* resistenci. Studie Kendrick et al. (2014) sledovala interakci populace *G. huxleyi* a viru *EhV* při zvýšení teploty o 3°C (z 18°C na 21°C), což by podle Alexander et al. (2013) mělo odpovídat změně teploty povrchových vod do roku 2100. Autor také naznačuje, že by mechanismem získané resistence mohly být změny buněčného povrchu hostitele, které znemožňují úspěšnou adsorpci viru na jeho povrch.

2.3 Proč virové infekce studovat?

Kokolitky mají nezastupitelné místo v mořských ekosystémech a biogeochemických cyklech. Významně se spolu s ostatními zástupci fytoplanktonu podílí na koloběhu uhlíku výměnou HCO_3^- a CO_2 mezi vodou a vzduchem a na ovlivňování pH povrchových vrstev oceánu. Fotosyntéza v horní vrstvě oceánu snižuje hladinu HCO_3^- a zabudovává ho do organických látek, zatímco remineralizace tohoto uhlíku v nižších vrstvách oceánu jej znovu uvolňuje. Tento proces nazýváme organická uhlíková pumpa (Volk & Hoffert, 1985; Rost & Riebesell, 2004) a je silně ovlivňována aciditou oceánů. Acidita dle předpokladů, díky stále se zvyšující koncentraci CO_2 v atmosféře a tedy i HCO_3^- ve vodě, do budoucna poroste a právě to, jak kokolitky na tuto změnu zareagují, v budoucnu pravděpodobně silně ovlivní průběh klimatických změn (Rost & Riebesell, 2004; Iglesias-Rodriguez et al., 2008). Již zmíněné klesání kokolitek, které mimo jiné významně reguluje právě virová infekce, navíc přispívá k vertikálnímu transportu organického uhlíku do hlubších vrstev moře, kdy anorganický $CaCO_3$ slouží jako balast se kterým se potopí i organický uhlík (Ziveri et al., 2007).

Kokolitky také produkují dimethylsulfoniopropionát (DMSP), osmoaktivní sloučeninu, kterou můžeme nalézt i u bakterií a jiných řas. Jedná se o sirnou sloučeninu, která je prekurzorem klimaticky aktivního dimethylsulfidu (DMS). DMS je těkavý plyn přirozeně přecházející z moří do atmosféry a představuje tak hlavní zdroj atmosférické síry, namísto H_2S, jak se dlouhou dobu vědecká obec domnívala (Lovelock et al., 1972).

Nejvýraznější specializací kokolitek je ovšem samotná kalcifikace. Tou jakožto nejhojnější planktonní kalcifikující mořské řasy výrazně přispívají ke globální kalcifikaci oceánů. Kokolitky patří společně s koráli a dírkonošci mezi tři hlavní skupiny podílející se na oceánské kalcifikaci. Co se týká tvorby

$CaCO_3$, obstarávají obrněnky a kokolitky většinu současné produkce. $CaCO_3$ produkovaný kokolitkami pak představuje přibližně polovinu veškeré globální oceánské produkce (Brownlee & Taylor, 2002). Biologickou funkci kalcifikace se vědcům přesto dodnes nepodařilo jasně odhalit. Existují hypotézy, které vysvětlují tvorbu kokolitů jako obranu proti intenzivnímu slunečnímu záření, jako obranu proti spásání či virové infekci (Krumhardt et al., 2017) nebo jako efektivní způsob, jak se zbavit přebytečných cytotoxických vápenatých iontů (Müller et al., 2015). Jasné vysvětlení ale stále postrádáme.

3 ROZSIVKY

3.1 Základní charakteristika rozsivek

Rozsivky jsou jednobuněčné zlatě až hnědě zbarvené řasy řazené mezi Stramenopila. Charakteristická pro ně je tvorba dvoudílných křemičitých schránek označovaných jako frustuly. Tyto schránky, původem buněčné stěny, jsou velmi pevné, porézní, průhledné a zapadají do sebe podobně jako dvě Petriho misky (Round et al., 1990). Křemičitá stěna je přítomná u všech volně žijících fototrofních druhů. Výjimku představují endosymbiotické, někdy i heterotrofní, druhy (Mann et al., 2016).

Rozsivky se vyskytují v téměř všech vodních habitatech. Nalezneme je jako součást planktonu i bentosu mořských i sladkých vod. Zároveň existují i terestrické druhy schopné života ve vlhké půdě (Round, 1982). Tím, že rozsivky nemají žádný aparát, díky, kterému by se ve vodním sloupci dokázaly aktivně pohybovat, jsou závislé na fyzikálním toku a proudění oceánu a tráví proto většinu času v jeho horní turbulentnější vrstvě (Mitchell et al., 2013).

Při dostatku světla a křemíku jsou populace rozsivek schopné zažívat období intenzivního růstu a vytvářet vodní květy (Armbrust, 2009). Křemík bývá dobře dostupný v chladnějších oceánech, v jezerech se většinou zvyšuje jeho hladina po zimě. Tento jev bývá často doprovázen tvorbou jarních vodních květů převážně hnědého zbarvení způsobeného právě rozsivkami (Wassmann & Aadnesen, 1984; Sarthou et al., 2005). Mezi další faktory, které mohou ovlivňovat růst rozsivek patří také koncentrace dusíku, fosforu, železa nebo interakce s jinými organismy, tedy i viry (Reynolds, 2006).

3.2 Obrana rozsivek

Přestože pravá příčina evolučního vzniku frustuly není dodnes známá, možnost, že vznikla jako mechanická obrana proti predaci či parazitismu se nejeví jako příliš pravděpodobná (Mann et al., 2016). Jedním z možných vysvětlení inkorporace křemičitanu do buněčné stěny je významně nižší energetická náročnost tohoto procesu oproti začleňování organických látek. Konkrétně se při začlenění kyseliny křemičité do buněčné stěny spotřebuje pouze 8 % energie potřebné k začlenění organického uhlíku (Raven, 1983). Další hypotézy předpokládají tvorbu schránky jako účinný způsob, jak absorbovat světlo nebo jako účinný filtrační mechanismus, který dokáže oddělit živiny od toxinů, patogenů a jiných nebezpečných složek (Mitchell et al., 2013).

Herringer et al. (2019) navrhuje, že by centrické rozsivky mohly využívat cyklického elektroosmotického proudění díky pórům v boční stěně (cingulum), jednak k usnadnění vstřebávání potřebných živin, ale také k filtraci a ochraně před virovými částicemi a jinými patogeny. Tento mechanismus autor označuje za „hydrodynamickou imunitu“.

3.2.1 Obrana proti predátorům

Podobně jako u kokolitek by i u rozsivek šlo předpokládat, že křemičitá schránka bude sloužit jako forma mechanické obrany. Přestože schránka poskytuje určitou formu ochrany, můžeme rozsivky označit jako běžnou součást potravy spásajícího zooplanktonu (Hamm et al., 2003).

Pondaven et al. (2007) pozoroval obranné mechanismy rozsivek kultivovaných společně s býložravci, kteří se na nich živí. Oproti jedincům pěstovaným v kulturách bez býložravců měli jedinci v kulturách s přítomnými býložravci výrazně silněji silicifikované buněčné stěny. Na základě tohoto pozorování označil autor zvýšenou silicifikaci jako možnou adaptivní obranou reakci proti predaci. Stejně jako může zvýšená silicifikace fungovat jako účinný obranný mechanismus proti kousacímu aparátu klanonožců (Hamm et al., 2003), funguje zvýšená silicifikace kusadel klanonožců opačně a usnadňuje pronikání do zesílených schránek rozsivek. Zdrojem křemíku pro silicifikaci kousacího aparátu klanonožců by přitom mohly být přímo frustuly spasených rozsivek, které se v hojném počtu nachází v jejich trávicí trubici (Michels & Schnack-Schiel, 2005).

Existují také důkazy o parazitismu a infekci rozsivek, která může způsobit jejich zrychlené klesání do nižších vrstev vodního sloupce (Canter & Jaworski, 1983; Raven & Waite, 2004). Pozorování infekce rozsivek zástupci parazitického rodu heterokont studií Kühn et al. (1996) přineslo otázku, kde se nachází slabá místa v jinak odolné frustule. Nejčastěji byla penetrace frustuly parazitickými heterokonty pozorována v oblasti opasku, tedy na spoji dvou křemičitých schránek. U silněji silicifikovaných rodů pronikali parazité pomocí speciálních otvůrků v buněčné stěně (označovaných jako rimoportula). Zajímavou skupinu pak tvoří tzv. zoosporičtí parazité rozsivek. Ty představuje heterogenní skupina velmi malých jednobuněčných organismů s bičíkatým stádiem parazitujících na mořských rozsivkách, mezi které lze zařadit zástupce chytridiomycet, oomycet a jiných stramenopilních organismů, parazitických obrněnek a dalších (Scholz et al., 2016). Scholz et al. (2016) ve své rešerši vyzdvihuje podhodnocenost a neprobádanost této skupiny trefným názvem své práce „Zoosporičtí parazité infikující mořské rozsivky – Černá skříňka, kterou je třeba otevřít“.

3.2.2 Vztahy s bakteriemi

O složité a komplexní povaze interakcí rozsivek s bakteriemi se ví již dlouhou dobu a důkazy, které tento fakt potvrzují stále přibývají (Amin et al., 2012). Již Waksman & Butler (1937) dokázali, že bakterie jsou schopny remineralizovat organické zbytky mrtvých rozsivek a využívat je k získávání potřebných živin, zejména uhlíku, fosforu a dusíku. Nicméně tato pozorování byla omezena pouze na již mrtvé rozsivky. Dnes již máme důkazy, které naznačují, že bakterie jsou schopné interagovat

s rozsivkami i během jejich života. Tyto interakce mohou mít charakter mutualistický, kompetitivní, ale i patogenní (Amin et al., 2012). Existují totiž algicidní bakterie jejichž interakce s rozsivkami vedou ke smrti jednoho nebo dokonce obou partnerů. Například studie Paul & Pohnert (2011) odhalila jak bakterie *Kordia algicida* interaguje s vybranými mořskými rozsivkami rodu *Skeletonema, Thalassiosira, Phaeodactylum* a *Chaetoceros*. Zatímco první tři jmenované negativně ovlivňovala produkcí algicidů, rod *Chaetoceros* se ukázal být na tyto algicidy necitlivý, ale negativně reagoval na jinou bakterii *Saprospira*. Tato bakterie tvoří kolonie složené z podlouhlých buněk schopných zachycovat rozsivky, agregovat je a tvořit plaky na jejich schránkách. Buněčné stěny rozsivek přitom degraduje a následně proniká do buněk, které lyzuje (Furusawa et al., 2003).

Další zajímavé objevy v rámci interkace bakterie-rozsivky přinesl výzkum Kimura & Tomaru (2014), který zkoumal rozsivku *Chaetoceros tenuissimus* a její přežívání v kulturách bez přítomnosti bakterií a v kulturách s bakteriemi. Zatímco v axenické kultuře tvořenou pouze *C. tenuissimus* bez přítomnosti bakterií byla infekce pro populaci smrtelná a končila lyzí buněk, v kultuře s bakteriemi byly buňky *C. tenissimus* schopny přežít infekci vyvolanou virem. Při podrobnějším zkoumání bylo zjištěno, že během exponenciální fáze růstu byly i tyto „odolné“ rozsivky citlivé k viru a spustila se u nich infekce, když ale dosáhly stacionární fáze, infekce byla potlačena.

3.2.3 Obrana proti virům

Jak již bylo zmíněno výše, některé rozsivky, konkrétně i rod *Chaetoceros*, kterému se bude věnovat tato práce, patří mezi organismy s heteromorfním životním cyklem, při kterém může organismus procházet dvěma či více různými morfologickými či fyziologickými stádii. Obecně tato stádia mohou rozšířit podmínky, ve kterých je organismus schopný přežít nebo mohou zprostředkovávat obranu proti patogenům (Pančić & Kiørboe, 2018). Do této skupiny by mimochodem patřily i vybrané druhy kokolitek, díky svému haplo-diploidnímu životnímu cyklu. U rozsivek v souvislosti s heteromorfním životním cyklem mluvíme o tvorbě klidových stádií, tedy cyst či spor. Ty jsou většinou tlustostěnné, tj. silně silicifikované, takže snadno a rychle klesají do hlubších vrstev vodního sloupce (Raven & Waite, 2004; Salter et al., 2012; Rynearson et al., 2013). Poprvé spory pozoroval Lund (1954), když zkoumal sezónní změny u sladkovodní rozsivky *Melosira italica* a zjistil, že tato rozsivka vykazuje nejvyšší abundanci na jaře a na podzim, zatímco léto je schopná přežívat na dně jezera ve formě, kterou označil právě za „klidové stádium“. V zimě pak pozoroval, jak byly díky proudění vody tyto klidové spory vyneseny opět k hladině, kde posloužily jako inokulum pro založení nové populace. Tvorbu klidových spor se během několika následujících let podařilo řadě výzkumných skupin zdokumentovat i u mořských rozsivek (Hargraves, 1976; Hollibaugh et al., 1981; French III & Hargraves, 1985).

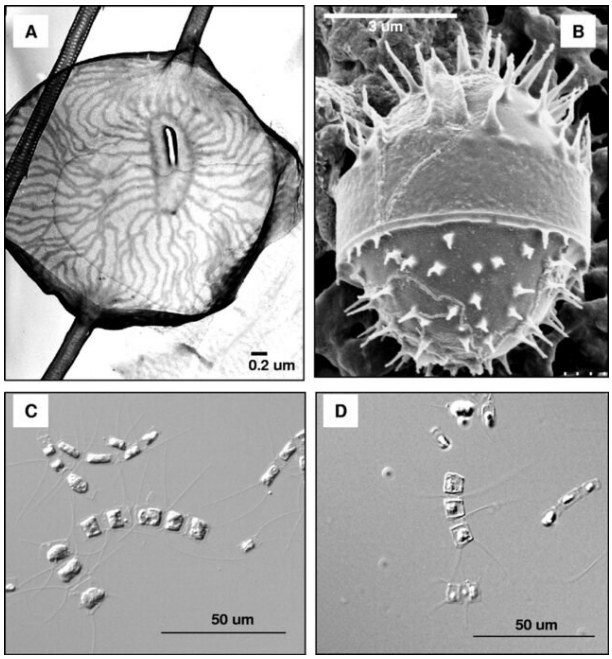
Raven & Waite (2004) navrhují, že by rozsivky mohly tvořit spory v reakci na patogeny a využívat je k přečkání nepříznivých podmínek, než se díky vertikálnímu promíchávání dostanou do prostředí s optimálnějšími podmínkami, za kterých by mohly vyklíčit bez toho, aniž by vypukla infekce. Navíc

by tak existoval efektivní způsob, jak odčerpávat infikované buňky z populací zdravých buněk u povrchu. Podobnou strategii můžeme pozorovat i u jiných druhů mořského planktonu. Například u obrněnky *Alexandrium ostenfeldii* byla pozorována tvorba klidových spor po vystavení chemických signálů přenášených parazitickým bičíkovcem *Parvilucifera infectans* (Toth et al., 2004). Při zvažování virové infekce jako spouštěče tvorby spor, ale Raven & Waite (2004) označili tuto možnost za nepravděpodobnou. Jedním z důvodu bylo, že v té době neexistovaly jednoznačné důkazy o tom, že viry rozsivky skutečně úspěšně napadají. Výzkum Suttle et al. (1991), který dané viry izoloval označují za neprůkazný. Viry při tomto výzkumu byly izolovány ultrafiltrací, filtrát byl následně přidán do kultury vybrané řasy a poté byl sledován pokles počtu jedinců v dané kultuře. Viry ale v případě rozsivek ne vždy způsobily tak významný pokles počtu buněk, který by odpovídal infekci. Dalším důvodem pro zavrhnutí této hypotézy označili Raven & Waite (2004) teoreticky nedostatečný prostor pro průchod viru do buňky. Nesilicifikovaná boční část buněčné stěny má totiž průměr asi 20 nm a póry v silicifikované stěně jsou ještě menší s průměrem jen okolo 5-10 nm (Mann, 1981).

Důkazů o existenci virů napadajících rozsivky, ale přibývalo a stejně tak i důkazů o jejich významné roli v životním cyklu rozsivek i biochemických cyklech s nimi spjatých. Prvním prokazatelně izolovaným a řádně popsaným virem infikujícím rozsivky byl jednovláknový (ss) RNA virus napadající druh *Rhizosolenia setigera* (Nagasaki et al., 2004). Jen v průběhu dalších pěti let stejná skupina vědců izolovala a popsala několik dalších virů (ssRNA i ssDNA) napadajících například i rod *Chaetoceros* (Nagasaki et al., 2005; Shirai et al., 2008; Tomaru et al., 2009). S dostatkem důkazů navrhli existenci celé skupiny ssRNA virů napadajících rozsivky tj. *Bacillariornaviridae*, která je co do počtu zástupců velmi podhodnocená a v podstatě neprozkoumaná. Kromě RNA virů by neměla být opomenuta také existence a význam DNA virů napadající rozsivky. Patří mezi ně například i jediné dosud izolované a popsané ssDNA viry napadající řasy. Příkladem by mohl být virus napadající *Chaetoceros tenuissimus* s kruhovým ssDNA genomem (Tomaru et al., 2011). Zajímavé je, že zástupce *C. tenuissimus* napadá i ssRNA virus (Shirai et al., 2008) a tento druh má tak hned dva přirozené patogeny lišící se typem nukleové kyseliny.

Většina systémů virus-hostitel v současnosti studovaných v laboratorních podmínkách je založena na rozsivkách rodu *Chaetoceros* a jejich virech. Rod *Chaetoceros* (Obrázek 4) je jedním z nejrozmanitějších a nejhojnějších druhů fytoplanktonu brakických a oceánských vod po celém světě (Malviya et al., 2016). Jak již bylo řečeno, viry, které rod *Chaetoceros* napadají jsou většinou ssRNA viry (popřípadě ssDNA) viry s velikostí okolo 20 nm a patří tak mezi nejmenší známé viry (Tomaru et al., 2009). I proto je jejich izolace a popis oproti dsDNA virům jako je například *EhV* mnohem náročnější. Množství a význam mořských RNA virů je přitom, právě kvůli složité izolaci, dlouhodobě podhodnocen, přestože tyto znalosti mohou být zásadní pro naše pochopení toku živin mořských ekosystémů (Steward et al., 2013; Arsenieff et al., 2022). Viry infikující rozsivky obecně označit za

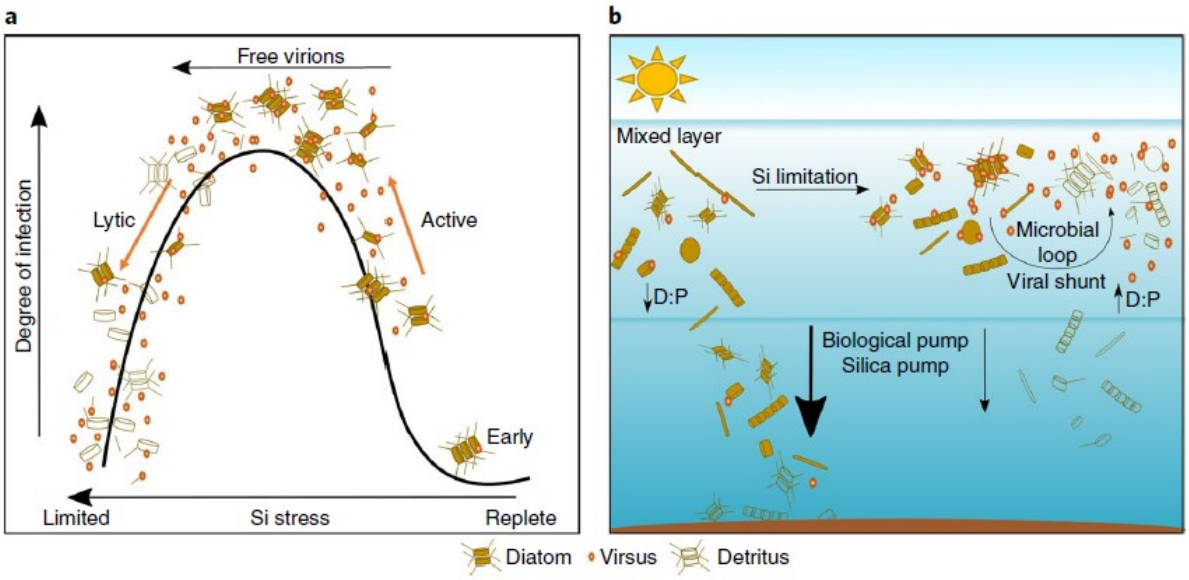
vysoce druhově specifické, s výjimkou viru *CtenRNAV typu II*, který je schopný kromě druhu *Chaetoceros tenuissimus* infikovat až další čtyři druhy rodu *Chaetoceros* (Kimura & Tomaru, 2015).



Obrázek 4 (převzato z Tomaru et al., 2009): *Chaetoceros socialis* (A) Snímek neinfikované buňky z transmisního elektronového mikroskopu, (B) snímek klidové spory ze skenovacího elektronového mikroskopu, (C) snímek neinfikovaných buněk ze světelného mikroskopu, (D) snímek buněk infikovaných příslušným DNA virem ze světelného mikroskopu.

3.2.4 Faktory ovlivňující resistenci a dynamiku virové infekce

Úspěšnost a rychlost virové infekce je nejspíše silně ovlivňována koncentrací rozpuštěno křemíku ve vodě. Tuto korelaci zkoumali Kranzler et al. (2019) a zjistili, že u populací vystavených tomuto křemíkovému stresu probíhala infekce rychleji a buňky byly rychleji lyzovány. Snižování koncentrace křemíku přitom odráželo sukcesi rozsivkových květů. Ve vodách bohatých na křemík rozsivkové populace velmi rychle rostou a virová infekce je pouze v ranné fázi. V určité chvíli, ale začne díky intenzivnímu růstu rozsivek křemíku ve vodě ubývat. Rozsivky jsou tak vystaveny mírnému křemíkovému stresu a infekce se tak může šířit, až napadá téměř celou populaci. Křemík je rozsivkami ovšem stále odčerpáván, zatímco množství biomasy květu dosahuje svého maxima. Buňky se dostávají do intenzivního křemíkového stresu, mění se jejich fyziologie a vylučují reaktivní formy kyslíku, které mohou sloužit jako signál pro virus k zahájení lyze buněk (Obrázek 5). Nastává hromadná lyze buněk, tedy ukončení vodního květu se současným uvolněním nových virionů.



Obrázek 5 (převzato z Kranzler et al., 2019): a) Korelace průběhu virové infekce a sukcese rozsivkových květů v závislosti na množství dostupného křemíku. b) Tok uhlíku při limitovaném množství Si ve vodě odpovídající virovému „zkratu“ a při dostatku Si a tvorbě klidových stádií zabraňujících infekci odpovídající virovému „člunku“.

Ukázalo se ale, že si rozsivky vyvinuly obranné mechanismy v podobě odbočky z tohoto pro ně špatně a rychle končícího cyklu. Při pozorování průběhu infekce u *Chaetoceros socialis* byla zaznamenána tvorba spor až u 80% populace v reakci na virovou infekci (Pelusi et al., 2021). Spory byly silně silicifikované a rychle se potápěly. Zároveň uvnitř těchto spor byla pozorována virová RNA a spory tedy byly infikovány. Uvnitř spor ale nebyly pozorovány zralé viriony. Lze tedy soudit, že virová infekce byla pozastavena a viry se takto nedokázaly dál v populaci šířit. Spory byly také schopné v příznivých podmínkách klíčit, aniž by se u nich vyvinula infekce a došlo k lyzi buňky. Díky jejich rychlému klesání docházelo navíc k rychlému odčerpávání infikované části populace do hloubky, čímž se snížilo riziko infekce u dosud nenakažené populace ve vyšších vrstvách. Tento mechanismus nebyl zaznamenán pouze během květů, ale působil i mezi tímto obdobím. Díky všem těmto aspektům, lze tvorbu spor označit jako účinný obranný mechanismus (Pelusi et al., 2021).

Nedávná studie Kranzler et al. (2021) také odhalila nízkou abundanci virů asociovaných s rozsivkami v oblastech s nedostatkem železa (Fe). Pozorované populace rozsivek vykazovaly při nedostatku Fe sníženou virovou replikaci a opožděnou mortalitu. Zatímco v kulturách nasycených Fe byl nárůst mimobuněčných virionů dva dny po infekci až 600násobný, v kulturách s nedostatkem Fe byl nárůst extracelulárních virionů pouze deseti násobný. Zároveň bylo u buněk s limitovaným přísunem Fe pozorováno o přibližně 50 % zvýšené množství buněčného SiO_2 a o 50 % vyšší antioxidační kapacita.

3.2.5 Dynamika červené královny nebo něco jiného?

Oproti virové infekci kokolitek, je dodnes virová infekce rozsivek poměrně přehlížena. Neexistuje mnoho článků, které by se zamýšlely nad dynamikou koexistence virus-hostitel tak, jako je tomu u kokolitek nebo se minimálně autoři těchto článků nepouští do tak odvážných, leč laické veřejnosti atraktivních hypotéz (tj. dynamika červené královny, kočky Šklíby či dokonce Schrödingerovy kočky Šklíby), přestože bychom mohli dojít k zajímavým závěrům.

Pelusi et al. (2021) se v textu o tomto vztahu zmiňuje jako o „závodech ve zbrojení“, což je jedno z označení používaných pro popis dynamiky červené královny. Je tomu, ale skutečně tak? Jak víme, resistentní spory jsou ve skutečnosti také nakaženy a virová RNA je v nich zapouzdřena (Pelusi et al., 2021). Neblíží se tato dynamika spíš modelu Schrödingerovy kočky Šklíby, při kterém jsou buňky nakaženy, a přitom vykazují resistenci? Abychom si na tyto otázky mohli odpověď je bezesporu potřeba ještě počkat, co nového přinesou budoucí studie tohoto tématu.

3.3 Proč virové infekce studovat?

Rozsivky patří podobně jako kokolitky k nejvýznamnějším mořským organismům (Mann et al., 2016). Odhaduje se, že přispívají přibližně 40 % k celkové primární produkci oceánů a patří tedy mezi dominantní fotosyntetické skupiny (Malviya et al., 2016; Nelson et al., 1995). Významně se zapojují do globálních biogeochemických cyklů, konkrétně především do koloběhu křemíku a uhlíku. Přeměňují anorganický, ve vodě rozpuštěný křemík ve formě kyseliny křemičité na biogenní amorfní oxid křemičitý, označovaný také jako opál a fixují fotosyntézou oxid uhličitý do organických sloučenin (Benoiston et al., 2017; Ragueneau et al., 2006).

Biogenní oxid křemičitý (SiO_2) má ale v mořské vodě tendenci se rozpouštět, a proto ho musí rozsivka před okolím prostředím chránit. Tuto ochranu zajišťuje obalením svých schránek specifickými glykoproteiny (Kröger et al., 1994), které rychlost rozpouštění SiO_2 ve vodě snižují, schránku tak stabilizují a mimo to také díky své organické povaze propojují cyklus C a Si (Lewin, 1961).

Jak již bylo zmíněno výše, rozsivky významně ovlivňují i cyklus uhlíku. Volný organický uhlík v mořských ekosystémech je obecně zastoupen ve dvou formách. Jednou je rozpuštěný organický uhlík (DOC), který tvoří velmi malé uhlíkaté částečky a druhou je částicový organický uhlík (POC), který je tvořen většími kousky organického materiálu. Hlavní rozdíl ale netkví ve velikosti DOC a POC, jako v jejich chování. Zatímco POC je z většiny spásán býložravci a přenáší se tak do vyšších trofických hladin. DOC takto snadno do vyšších trofických hladin nepřechází (Azam et al., 1983; Fuhrman, 1992). Je tomu tak proto, že organismy mají tendenci jako potravu využívat částice o řád menší než jsou oni sami, jak popisuje Sheldon et al. (1972). Když je tedy DOC uvolňován fytoplanktonem, mohou jej využívat především bakterie. Bakterie se naopak stávají potravou větších heterotrofních bičíkovců, které požírá mikrozooplankton, který je už velikostně srovnatelný s některými většími druhy fytoplanktonu.

Jedině touto cestou, kterou Azam et al. (1983) pojmenovává bakteriální smyčkou (bakterie- bičíkovci-mikrozooplankton), se může DOC dostat do vyšších trofických hladin.

Viry pak toto schéma ovlivňují především tím, že přeměňují POC na DOC, jinými slovy odvádějí organickou hmotu z vyšších trofických vrstev do nižších. Tento proces označujeme jako „virový zkrat“ (viral shunt) (Wilhelm & Suttle, 1999) a mořské viry takto přemění až čtvrtinu veškerého biologicky fixovaného uhlíku (Laber et al., 2018). Proto má většina studií tendenci zaměřovat se právě virové interakce ovlivňující virový zkrat. Schéma virového zkratu ale neodpovídá životnímu cyklu rozsivek, které tvoří spory. Ačkoli je organická hmota dopravována do nižších vrstev vodního sloupce, neděje se tak díky lyzi, ale díky tvorbě spor a syntéze polymerních látek, které buňky zatěžují a snadněji se tak potápí. Tento transport můžeme označit spíše jako virový „člunek“ nebo „kyvadlovou dopravu“ uhlíku (viral shuttle) (Wilhelm & Suttle, 1999; Pelusi et al., 2021). Téma tvorby klidových stádií na základě ovlivňování biologickými faktory prostředí tak zůstává i nadále málo a nedostatečně prozkoumáno (Rynearson et al., 2013; Mann et al., 2016).

4 POROVNÁNÍ

<table>
<tr><td>Kritérium</td><td>kokolitky</td><td>rozsivky</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Zástupci, pro studii obrany proti virové infekci</td><td>Gephyrocapsa (Emiliania) huxylei</td><td>rod Chaetoceros spp. + jiné rody, včetně penátních rozsivek</td></tr>
<tr><td colspan="2">Studie kokolitek a jejich virů jsou zaměřeny pouze na Gephyrocapsa huxleyi. To může být také díky tomu, že přestože známe několik stovek druhů kokolitek, pouze pár z nich jsme schopni kultivovat v laboratoři (Probert & Houdan, 2004). Většina biologických výzkumů na kokolitkách je proto zaměřena v podstatě na dvou druzích Gephyrocapsa (Emiliania) huxleyi a Chrysotila (Pleurochrysis) carterae (Wheeler et al., 2023). O virové infekci C. carterae se mi ale žádné články dohledat nepodařilo. Viry napadající jiné kokolitky, než G. huxylei tak představují neprobádanou oblast.
Obecně nejsou studie virů infikujících rozsivky tak úzce zaměřeny na jeden druh, ani rod, jako studie na virů infikujících kokolitky. Studie Walde et al. (2023) představila RNA virus infikující mořskou rozsivku Guinardia delicatula a odhalila že G. delicatula vytváří spory jako obranný mechanismus proti infekci podobně jako rozsivky rodu Chaetoceros. Kromě centrických rozsivek rodu Chaetoceros se navíc studie začínají zaměřovat i na penátní rozsivky a jim odpovídající viry. Jako přikládat lze uvést RNA virus napadající Asterionellopsis glacialis a DNA virus infikující Thalassionema nitzschioides (Tomaru et al., 2012).</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Velikost hostitelských buněk</td><td>5-10 µm</td><td>Značně proměnlivá, 6-44 µm (Chatoceros, Chaetoceros dichaeta Ehrenb)</td></tr>
<tr><td colspan="2">G. huxleyi je oproti zástupcům rodu Chaetoceros přibližně třikrát, ale klidně až desetkrát menší (Hasle & Syvertsen, 1997; Assmy et al., 2008). Obecně lze o kokolitkách říci, že jsou oproti rozsivkám velmi malé.</td></tr>
</table>

Kritérium	kokolitky	rozsivky
Virus a jeho typ genomu	Kokolitku *Gephorycapsa (Emiliania) huxleyi* napadá *Emiliania huxleyi virus,* dvouřetězcový (ds) DNA virus.	Rozsivky rodu *Chaetoceros* napadají jednořetězcové viry s (ss) RNA i (ss) DNA genomy.
	EhV patří do čeledi *Phycodnaviridae* (Schroeder et al., 2002), která sdružuje velké ikosahedrické (ds)DNA (160-560 kb) viry napadající řasy. Později byl pro viry napadající kokolitky vyčleněn rod *Coccolithovirus* (Van Etten et al., 2002). Viry napadající rozsivky rodu *Chaetoceros* mohou mít jednořetězcové (ss) RNA i (ss) DNA genomy. Na základě objevů celé řady ssRNA virů napadajících rozsivky byla navržena existence skupiny *Bacillariornaviridae* (Nagasaki et al., 2005; Shirai et al., 2008; Tomaru et al., 2009). Se svojí velikostí 160-180 nm (Castberg et al., 2002) *EhV* až desetkrát převyšuje rozsivkové viry, které mohou dosahovat velikosti okolo 20 nm (Tomaru et al., 2009).	
Průběh infekce	V citlivých buňkách probíhá akutně lytický cyklus, v resistentních buňkách latentně přetrvává virový transkriptom.	V citlivých buňkách probíhá akutně lytický cyklus, v resistentních latentně přetrvává virový genom.
	Rozsivky i kokolitky mají společné to, že v případě rezistence se virová infekce mění z lytické na latentní (Mordecai et al., 2017; Pelusi et al., 2021). Zatímco citlivé buňky, které u *G.huxleyi* odpovídají diploidním kalcifikovaným buňkám a u rozsivek rodu *Chaetoceros* vegetativním buňkám, jsou několik hodin po propuknutí infekce lyzovány za uvolnění zralých virionů (Schroeder et al., 2002; Kranzler et al., 2019). Resistentní formy, tedy u *G.huxleyi* buňky s haploidním fenotypem a u rozsivek diploidní *Chaetoceros* spory, sice jsou infikovány virem (u *G. huxleyi* byla pozorována pouze virová RNA a ne DNA), ale viry uvnitř buněk nedozrávají a při přechodu do původního stavu nejsou z buněk uvolňovány viriony.	

<table>
<tr><td>Kritérium</td><td>kokolitky</td><td>rozsivky</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Vliv schránky na resistenci proti virové infekci</td><td>Uhličitanová schránka má negativní vliv na resistenci.</td><td>Schránka, a především míra její silicifikace má pozitivní vliv na resistenci.</td></tr>
<tr><td colspan="2">U kokolitek mezery mezi kalcifikovanými kokolity umožňují viru přichytit se na specifické receptory na buněčné membráně diploidních buněk citlivých na virovou infekci. U resistentních nekalcifikovaných (haploidních i diploidních) buněk je jednou z klíčových vlastností přítomnost nekalcifikovaných organických šupin, které těsně naléhají na buněčnou membránu a efektivně tak kryjí receptory, potřebné ke vstupu viru do buňky (Klaveness, 1971a; Green et al., 1996).
U vegetativních buněk rozsivek se za obecně slabá místa jinak odolné frustule považuje oblast opasku, kde se spojují dvě křemičité schránky a póry (Mann, 1981). Spory jsou pak silněji silicifikované, ale stále mají póry, kterými nejspíše virus proniká, protože i ve sporách byla objevena virová RNA, nicméně zralé viriony v těchto buňkách pozorovány nebyly (Pelusi et al., 2021).</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Mechanismus behaviorální obrany</td><td>Tvorba buněk haploidního fentoypu.</td><td>Tvorba silnostěnných spor.</td></tr>
<tr><td colspan="2">*G. huxleyi* i rozsivky rodu *Chaetoceros* patří mezi organismy s heteromorfními životními cykly a dokáží tedy tvořit různá životní stádia, díky kterým oba dva organismy dokáží úspěšně unikat virové nákaze (M. Frada et al., 2008; Pelusi et al., 2021). *G. huxleyi* má haplo-diplontní životní cyklus, přičemž buňky s haploidním fenotypem (haploidní i diploidní s haploidním fenotypem) jsou schopny unikat nákaze. Resistenci tedy poskytuje nejspíše určitá vlastnost (možná organické šupiny) haploidního fenotypu. (Green et al., 1996; Frada et al., 2017).
Rozsivky rodu *Chaetoceros* jsou schopny tvořit silnostěnné spory, které odolávají virové nákaze. Resistenci poskytuje určitá dosud neznámá vlastnost spor, která znemožňuje viru uvnitř buňky dozrát. Infekce spor tak pro virus představuje slepou cestu, protože i po vyklíčení spory zpět virus není schopen v infekci pokračovat (Pelusi et al., 2021).</td></tr>
</table>

Kritérium	kokolitky	rozsivky
Vliv bakterií na resistenci proti virové infekci	Bakterie mají vliv na resistenci.	Bakterie mají vliv na resistenci.
	U *G. huxleyi* byla pozorována situace, kdy bakteriální signál 2-heptyl-4-chinolon (HHQ) dokáže reversibilně zastavit buněčný cyklus, a tím zastavit i průběh virové infekce a oddálit tak lyzi napadené buňky (Pollara et al., 2021). U rozsivky *Chaetoceros tenuissimus* byla pozorována získaná resistence v přítomnosti vybraných bakteriálních druhů. V kultuře s bakteriemi byla *C. tenuissimus* infikována virem, ale infekce byla pozastavena, aniž by došlo k lyzi buněk (Kimura & Tomaru, 2014). Bakteriální interakce s fytoplanktonem v obou dvou příkladech nezabraňuje přímo virové infekci, protože buňky jsou prokazatelně infikované. Dokáže ale zabránit buněčné lyzi.	

Tabulka 1: Porovnání obrany vybraných druhů fytoplanktonu (kokolitek a rozsivek) proti virové infekci na základě několika kritérií.

Při porovnání obrany kokolitek a rozsivek proti virové infekci (Tabulka 1) si je možno povšimnout určitých analogií, ale i rozdílů. Zajímavou analogií je například změna průběhu virové infekce z akutní infekce končící lyzí buňky na latentní infekci, přestože v obou případech je změny dosaženo jiným mechanismem. Stejně tak lze za společné kokolitkám i rozsivkám označit ovlivňování resistence na virovou infekci interakcemi s bakteriální komunitou s nimi asociovanou. Rozdílem je oproti tomu například neexistence důkazů o existenci RNA virů napadajících *G. huxleyi*. Tento fakt, ale může být dán již zmíněnou absencí prací zabývajících se jinými systémy než *G. huxleyi-Emiliania huxleyi virus*. Oproti tomu u rozsivek rodu *Chaetoceros* existuje několik studií potvrzujících existenci jak DNA, tak RNA virů (Nagasaki et al., 2005; Shirai et al., 2008; Tomaru et al., 2009). Dalším výrazným rozdíl je vliv schránky na úspěšnost virové infekce, kdy u kokolitek má schránka na infekci negativní vliv (Green et al., 1996) a u rozsivek pozitivní (Pelusi et al., 2021).

4.1 Co vše ještě dodnes nevíme

4.1.1 Viry infikující kokolitky a rozsivky

Přestože prací na téma behaviorální obrany proti virové infekci stále přibývá, existuje mnoho otázek, na které dodnes neznáme odpověď. Co se týká samotných virů infikujících kokolitky a rozsivky, existuje zde naprosto neprobádaná oblast virů napadajících jiné kokolitky, než *G. huxleyi*. Samotná čeleď *Phycodnaviridae,* do které EhV zařazujeme, je nedostatečně prozkoumán a co do počtu zástupců podhodnocena. Diversita virů, které zahrnuje je přitom tak velká, že je vysoce pravděpodobné, že se rozpadne na několik menších čeledí (Schroeder et al., 2002). Studie zkoumající viry napadající jiné rozsivky, než rod *Chaetoceros* sice existují (viz Tabulka č. 1), ale pravděpodobně stále zůstává velké množství virů infikujících rozsivky neodhaleno. Stejně jako čeleď *Phycodnaviridae,* je čeleď

Bacillariornaviridae podhodnocena, co do počtu zástupců a prakticky neprozkoumaná (Nagasaki et al., 2005; Shirai et al., 2008; Tomaru et al., 2009). Další slepé místo představují studie zkoumajících (ss) DNA rozsivky infikující viry.

4.1.2 Behaviorální obrana kokolitek a rozsivek proti virové infekci

Prací zabývajících se biochemickou podstatou obrany kokolitek proti virové infekci přibývá (Rosenwasser et al., 2014; Malitsky et al., 2016), definitivní výsledky a závěry ale stále postrádáme. Co se týká rozsivek, zůstává mechanismus a biochemická podstata jak samotné virové infekce, tak obrany rozsivek dodnes neznámá. U rozsivek ani kokolitek s úplnou určitostí nevíme, jak přesně virus vstupuje do buňky. Studie resistence kokolitek proti virové infekci se zaměřují na buňky s kokolity nebo organickými šupinami, ale chybí studie nahých buněk, zcela bez šupin (Green et al., 1996). Ani buňky s kokolity a organickými šupinami, a především jejich vztah a propojenost, nejsou dodnes dostatečně prozkoumány. Stále neznáme přesnou dynamiku virové infekce a vztah jednotlivých forem *G. huxleyi* (diploidní kalcifikovaná, diploidní s haploidním fenotypem, haploidní nekalcifikovaná). S tím souvisí i modely dynamiky, tj. Dynamika červené královny, Dynamika Kočky Šklíby… (Frada et al., 2008; Mordecai et al., 2017). Správný model totiž pravděpodobně bude ještě úplně jiný.

Práce zabývající se studiem obrany rozsivek proti virové infekci mají tendenci přehlížet mechanismus virového článku, který odpovídá tvorbě spor rozsivkami a jejich klesání. Tento mechanismus je oproti mechanismu virového zkratu velmi málo prozkoumán. S tím souvisí i nedostatek studií zaměřujících se na tvorbu spor jako reakci proti virové infekci. Nikdo se také nepokusil aplikovat některý z modelů dynamiky virové infekce kokolitek (tj. Dynamika červené královny, Dynamika Kočky Šklíby…) na schéma virové infekce rozsivek.

4.1.3 Faktory ovlivňující resistenci kokolitek a rozsivek proti virové infekci

Existuje nedostatek prací zabývajících se ovlivňováním virové infekce biologickými faktory (například bakteriemi, viz výše), stejně tak, jako nevíme, jak budou kokolitky reagovat na měnící se klimatické podmínky a jiné abiotické faktory, a jak to ovlivní jejich interakci s viry. Dodnes také s jistotou neznámé pravý důvod evolučního vzniku kokolitů kokolitek ani frustuly rozsivek (Brownlee & Taylor, 2002; Benoiston et al., 2017).

5 ZÁVĚR

Tato práce stručně shrnuje a porovnává mechanismus behaviorální obrany kokolitky *Gephyrocapsa huxleyi* a rozsivek rodu *Chaetoceros* proti virové infekci. Přestože prací zkoumajících interakce virů a fytoplanktonu stále přibývá (Brussaard, 2004), jedná se stále o nedostatečně prozkoumané téma a do jeho plného pochopení máme ještě daleko. Jak tato práce poukazuje, virová infekce a jí odpovídající behaviorální obrana mezi různými druhy fytoplanktonu si může být v určitých aspektech podobná, ale může se také významně lišit. Čím se naše znalosti v dané tématice prohlubují, tím více zjišťujeme, jak důležité hybatele mořských ekosystémů viry skutečně představují. S očekávanými klimatickými změnami navíc nastává otázka, jak tyto významné skupiny fytoplanktonu na dané změny zareagují a jak to ovlivní právě jejich interakci s viry, respektive jejich možnou resistenci (Rost & Riebesell, 2004; Iglesias-Rodriguez et al., 2008). Získání této odpovědi bude vyžadovat detailnější zkoumání mechanismů obrany kokolitek i rozsivek a vhodnou kombinaci a zohlednění několika různých přístupů studia, od morfologického, po molekulární. Dále bude také potřeba podrobnějšího výzkumu ovlivňování resistence fytoplanktonu biotickými i abiotickými faktory a v neposlední řadě rozšíření studia virové infekce a odpovídající behaviorální obrany na co možná nejvíce druhů a skupin fytoplanktonu.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

(*sekundární zdroj literatury)

Alexander, L., Allen, S., Bindoff, N., Breon, F.-M., Church, J., Cubasch, U., Emori, S., Forster, P., Friedlingstein, P., Gillett, N., Gregory, J., Hartmann, D., Jansen, E., Kirtman, B., Knutti, R., Kanikicharla, K., Lemke, P., Marotzke, J., Masson-Delmotte, V., & Xie, S.-P. (2013). Climate change 2013: The physical science basis, in contribution of working group i (WGI) to the fifth assessment report (AR5) of the intergovernmental panel on climate change (IPCC). In *Climate Change 2013: The physical science basis*.

* Amin, S. A., Parker, M. S., & Armbrust, E. V. (2012). Interactions between diatoms and bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *76*(3), 667–684. https://doi.org/10.1128/mmbr.00007-12

Armbrust, E. V. (2009). The life of diatoms in the world's oceans. *Nature*, *459*(7244), 185–192. https://doi.org/10.1038/nature08057

Arsenieff, L., Kimura, K., Kranzler, C. F., Baudoux, A.-C., & Thamatrakoln, K. (2022). Diatom viruses. In A. Falciatore & T. Mock (Ed.), *The Molecular Life of Diatoms* (s. 713–740). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-92499-7_24

Assmy, P., Hernández-Becerril, D. U., & Montresor, M. (2008). Morhoplogical variability and life cycle traits of the type species of the diatom genus *Chaetoceros, C. dichaeta*. *Journal of Phycology*, *44*(1), 152–163. https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00430.x

Azam, F., Fenchel, T., Field, J. G., Gray, J. S., Meyer-Reil, L. A., & Thingstad, F. (1983). The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine ecology progress series*. https://doi.org/10.3354/meps010257

* Balch, W. M. (2018). The ecology, biogeochemistry, and optical properties of coccolithophores. *Annual Review of Marine Science*, *10*(1), 71–98. https://doi.org/10.1146/annurev-marine-121916-063319

Benoiston, A.-S., Ibarbalz, F. M., Bittner, L., Guidi, L., Jahn, O., Dutkiewicz, S., & Bowler, C. (2017). The evolution of diatoms and their biogeochemical functions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *372*(1728), 20160397. https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0397

Bergh, Ø., BØrsheim, K. Y., Bratbak, G., & Heldal, M. (1989). High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature*, *340*(6233), 467–468. https://doi.org/10.1038/340467a0

Bidle, K. D., Haramaty, L., Barcelos e Ramos, J., & Falkowski, P. (2007). Viral activation and recruitment of metacaspases in the unicellular coccolithophore, *Emiliania huxleyi*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(14), 6049–6054. https://doi.org/10.1073/pnas.0701240104

Blanc, M., Hsieh, W. Y., Robertson, K. A., Watterson, S., Shui, G., Lacaze, P., Khondoker, M., Dickinson, P., Sing, G., Rodríguez-Martín, S., Phelan, P., Forster, T., Strobl, B., Müller, M., Riemersma, R., Osborne, T., Wenk, M. R., Angulo, A., & Ghazal, P. (2011). Host defense against viral infection involves interferon mediated down-regulation of sterol biosynthesis. *PLoS Biology*, *9*(3), e1000598. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000598

Bousquet, L., Fainsod, S., Decelle, J., Murik, O., Chevalier, F., Gallet, B., Templin, R., Schwab, Y., Avrahami, Y., Koplovitz, G., Ku, C., & Frada, M. (2024). Life cycle and morphogenetic differentiation in heteromorphic cell types of a cosmopolitan marine microalga. https://doi.org/10.1101/2024.07.03.601694

Brown, C. W., & Yoder, J. A. (1994). Coccolithophorid blooms in the global ocean. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, *99*(C4), 7467–7482. https://doi.org/10.1029/93JC02156

*Brownlee, C., & Taylor, A. (2002). Algal calcification and silification. *Encyclopedia of Life Sciences*. https://doi.org/10.1038/npg.els.0000313

Brussaard, C., Kempers, R., Kop, A., Riegman, R., & Heldal, M. (1996). Virus like particles in a summer bloom of *Emiliania huxley* in the north sea. *Aquatic Microbial Ecology*, *10*, 105–113. https://doi.org/10.3354/ame010105

* Brussaard, C. P. D. (2004). Viral control of phytoplankton populations—a review. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, *51*(2), 125–138. https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2004.tb00537.x

Canter, H. M., & Jaworski, G. H. M. (1983). A further study on parasitism of the diatom *Fragilaria crotonensis* kitton by chytridiaceous fungi in culture. *Annals of Botany*, *52*(4), 549–563. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086610

Castberg, T., Thyrhaug, R., Larsen, A., Sandaa, R.-A., Heldal, M., Van Etten, J. L., & Bratbak, G. (2002). Isolation and characterization of a virus that infects *Emiliania huxleyi* (haptophyta). *Journal of Phycology*, *38*(4), 767–774. https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2002.02015.x

* Cloern, J. E. (1996). Phytoplankton bloom dynamics in coastal ecosystems: A review with some general lessons from sustained investigation of San Francisco Bay, California. *Reviews of Geophysics*, *34*(2), 127–168. https://doi.org/10.1029/96RG00986

Dugdale, R. C., & Wilkerson, F. P. (1998). Silicate regulation of new production in the equatorial Pacific upwelling. *Nature*, *391*(6664), 270–273. https://doi.org/10.1038/34630

Dunigan, D. D., Fitzgerald, L. A., & Van Etten, J. L. (2006). Phycodnaviruses: A peek at genetic diversity. *Virus Research*, *117*(1), 119–132. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2006.01.024

Evans, C., Kadner, S. V., Darroch, L. J., Wilson, W. H., Liss, P. S., & Malin, G. (2007). The relative significance of viral lysis and microzooplankton grazing as pathways of dimethylsulfoniopropionate (DMSP) cleavage: An *Emiliania huxleyi* culture study. *Limnology and Oceanography*, *52*(3), Article 3. https://doi.org/10.4319/lo.2007.52.3.1036

Evans, C., Malin, G., Mills, G., & Wilson, W. (2006). Viral infection of *Emiliania huxleyi* (*Prymnesiophyceae*) leads to elevated production of reactive oxygen species. *Journal of Phycology*, *42*, 1040–1047. https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2006.00256.x

F. E. Round. (1982). The ecology of algae. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, *62*(2), 492–492. https://doi.org/10.1017/S0025315400057507

Flegr, J., Macháček, J., Pokorný, P., Storch, D., Tuf, I. H., & Zrzavý, J. (2003). Černá i červená královna. *Časopis Vesmír*. https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/2003/cislo-1/cerna-cervena-kralovna.html

Frada, M. J., Rosenwasser, S., Ben-Dor, S., Shemi, A., Sabanay, H., & Vardi, A. (2017). Morphological switch to a resistant subpopulation in response to viral infection in the bloom-forming coccolithophore *Emiliania huxleyi*. *PLOS Pathogens*, *13*(12), e1006775. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006775

Frada, M., Probert, I., Allen, M. J., Wilson, W. H., & De Vargas, C. (2008). The "Cheshire Cat" escape strategy of the coccolithophore *Emiliania huxleyi* in response to viral infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(41), 15944–15949. https://doi.org/10.1073/pnas.0807707105

French III, F. W., & Hargraves, P. E. (1985). Spore formation in the life cycles of the diatoms *Chaetoceros diadema* and *Leptocylindrus danicus*. *Journal of Phycology*, *21*(3), 477–483. https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1985.00477.x

Fuhrman, J. (1992). Bacterioplankton roles in cycling of organic matter: the microbial food web. In P. G. Falkowski, A. D. Woodhead, & K. Vivirito (Ed.), *Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea* (s. 361–383). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-0762-2_20

Fuhrman, J. A. (1999). Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature*, *399*(6736), 541–548. https://doi.org/10.1038/21119

Furusawa, G., Yoshikawa, T., Yasuda, A., & Sakata, T. (2003). Algicidal activity and gliding motility of *Saprospira* sp. SS98-5. *Canadian Journal of Microbiology*, *49*(2), 92–100. https://doi.org/10.1139/w03-017

Green, D. H., Echavarri-Bravo, V., Brennan, D., & Hart, M. C. (2015). Bacterial diversity associated with the coccolithophorid algae *Emiliania huxleyi* and *Coccolithus pelagicus f. Braarudii*. *BioMed Research International*, *2015*, 194540. https://doi.org/10.1155/2015/194540

* Green, J. C., Course, P. A., & Tarran, G. A. (1996). The life-cycle of *Emiliania huxleyi*: A brief review and a study of relative ploidy levels analysed by flow cytometry. *Journal of Marine Systems*, *9*, 33–44. https://doi.org/10.1016/0924-7963(96)00014-0

Hamm, C. E., Merkel, R., Springer, O., Jurkojc, P., Maier, C., Prechtel, K., & Smetacek, V. (2003). Architecture and material properties of diatom shells provide effective mechanical protection. *Nature*, *421*(6925), 841–843. https://doi.org/10.1038/nature01416

Hansson, L.-A. (2000). Synergistic effects of food chain dynamics and induced behavioral responses in aquatic ecosystems. *Ecology*, *81*(3), 842–851. https://doi.org/10.1890/0012-9658(2000)081[0842:SEOFCD]2.0.CO;2

Hargraves, P. E. (1976). Studies on marine plankton diatoms. II. Resting spore morphology. *Journal of Phycology*, *12*(1), 118–128. https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1976.tb02838.x

Harris, R. P. (1994). Zooplankton grazing on the coccolithophore *Emiliania huxleyi* and its role in inorganic carbon flux. *Marine Biology*, *119*(3), 431–439. https://doi.org/10.1007/BF00347540

Harvey, E., Bidle, K., & Johnson, M. (2015). Consequences of strain variability and calcification in *Emiliania huxleyi* on microzooplankton grazing. *Journal of Plankton Research*, *37*, fbv081. https://doi.org/10.1093/plankt/fbv081

Hasle, G. R., & Syvertsen, E. E. (1997). *Identifing Marine Phytoplankton*. Academic press.

Herringer, J. W., Lester, D., Dorrington, G. E., & Rosengarten, G. (2019). Can diatom girdle band pores act as a hydrodynamic viral defense mechanism? *Journal of Biological Physics*, *45*(2), 213–234. https://doi.org/10.1007/s10867-019-09525-5

* Hmelo, L. R. (2017). Quorum sensing in marine microbial environments. *Annual Review of Marine Science*, *9*, 257–281. https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060656

Hollibaugh, J. T., Seibert, D. L. R., & Thomas, W. H. (1981). Observations on the survival and germination of resting spores of three *Chaetoceros* (*bacillariophyceae*) species. *Journal of Phycology*, *17*(1), 1–9. https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1981.tb00812.x

Holligan, P. M., Viollier, M., Harbour, D. S., Camus, P., & Champagne-Philippe, M. (1983). Satellite and ship studies of coccolithophore production along a continental shelf edge. *Nature*, *304*(5924), 339–342. https://doi.org/10.1038/304339a0

Hunter, J., Frada, M., Fredricks, H., Vardi, A., & Van Mooy, B. (2015). Targeted and untargeted lipidomics of *Emiliania huxleyi* viral infection and life cycle phases highlights molecular biomarkers of infection, susceptibility, and ploidy. *Frontiers in Marine Science*, *2*. https://doi.org/10.3389/fmars.2015.00081

Iglesias-Rodriguez, D., Halloran, P., Rickaby, R. E. M., Hall, I., Colmenero-Hidalgo, E., Gittins, J., Green, D., Tyrrell, T., Gibbs, S., Von Dassow, P., Rehm, E., Armbrust, E., & Boessenkool, K. (2008). Phytoplankton calcification in a high-CO2 world. *Science*, *320*, 336–340. https://doi.org/10.1126/science.1154122

Kendrick, B. J., DiTullio, G. R., Cyronak, T. J., Fulton, J. M., Mooy, B. A. S. V., & Bidle, K. D. (2014). Temperature-induced viral resistance in *Emiliania huxleyi* (*Prymnesiophyceae*). *PLOS ONE*, *9*(11), e112134. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112134

Kimura, K., & Tomaru, Y. (2014). Coculture with marine bacteria confers resistance to complete viral lysis of diatom cultures. *Aquatic Microbial Ecology*, *73*(1), 69–80. https://doi.org/10.3354/ame01705

Kimura, K., & Tomaru, Y. (2015). Discovery of two novel viruses expands the diversity of single-stranded DNA and single-stranded RNA viruses infecting a cosmopolitan marine diatom. *Applied and Environmental Microbiology*, *81*(3), 1120–1131. https://doi.org/10.1128/AEM.02380-14

Kirk, D. L., & Kirk, M. M. (1986). Heat shock elicits production of sexual inducer in *Volvox*. *Science*, *231*(4733), 51–54. https://doi.org/10.1126/science.3941891

Klaveness, D. (1971). *Coccolithus huxleyi (Lohmann)* Kamptn. I. Morphological investigations on the vegetative cell and the process of coccolith formation. Protistologica 8, 335-346. *Protistologica*, *8*, 335–246.

Kolb, A., & Strom, S. (2013). An inducible antipredatory defense in haploid cells of the marine microalga *Emiliania huxleyi* (*Prymnesiophyceae*). *Limnology and Oceanography*, *58*(3), 932–944. https://doi.org/10.4319/lo.2013.58.3.0932

Kranzler, C. F., Brzezinski, M. A., Cohen, N. R., Lampe, R. H., Maniscalco, M., Till, C. P., Mack, J., Latham, J. R., Bruland, K. W., Twining, B. S., Marchetti, A., & Thamatrakoln, K. (2021). Impaired viral infection and reduced mortality of diatoms in iron-limited oceanic regions. *Nature Geoscience*, *14*(4), 231–237. https://doi.org/10.1038/s41561-021-00711-6

Kranzler, C., Krause, J., Brzezinski, M., Edwards, B., Biggs, W., Maniscalco, M., McCrow, J., Van Mooy, B., Bidle, K., Allen, A., & Thamatrakoln, K. (2019). Silicon limitation facilitates virus infection and mortality of marine diatoms. *Nature Microbiology*, *4*. https://doi.org/10.1038/s41564-019-0502-x

Kröger, N., Bergsdorf, C., & Sumper, M. (1994). A new calcium binding glycoprotein family constitutes a major diatom cell wall component. *The EMBO Journal*, *13*(19), 4676–4683. https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1994.tb06791.x

Krumhardt, K. M., Lovenduski, N. S., Iglesias-Rodriguez, M. D., & Kleypas, J. A. (2017). Coccolithophore growth and calcification in a changing ocean. *Progress in Oceanography*, *159*, 276–295. https://doi.org/10.1016/j.pocean.2017.10.007

Kühn, S. F., Drebes, G., & Schnepf, E. (1996). Five new species of the nanoflagellate *Pirsonia* in the German Bight, North Sea, feeding on planktic diatoms. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, *50*(2), Article 2. https://doi.org/10.1007/BF02367152

Laber, C. P., Hunter, J. E., Carvalho, F., Collins, J. R., Hunter, E. J., Schieler, B. M., Boss, E., More, K., Frada, M., Thamatrakoln, K., Brown, C. M., Haramaty, L., Ossolinski, J., Fredricks, H., Nissimov, J. I., Vandzura, R., Sheyn, U., Lehahn, Y., Chant, R. J., … Bidle, K. D. (2018). *Coccolithovirus* facilitation of carbon export in the North Atlantic. *Nature Microbiology*, *3*(5), 537–547. https://doi.org/10.1038/s41564-018-0128-4

Laguna, R., Romo, J., Read, B., & Wahlund, T. (2001). Induction of phase variation events in the life cycle of the marine coccolithophorid *Emiliania huxleyi*. *Applied and environmental microbiology*, *67*, 3824–3831. https://doi.org/10.1128/AEM.67.9.3824-3831.2001

Lewin, J. C. (1961). The dissolution of silica from diatom walls. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, *21*(3), 182–198. https://doi.org/10.1016/S0016-7037(61)80054-9

Lohnmann, H. (1902). Die Coccolithophoridae, eine Monographie der Cocoolithen bildenden Flagellaten, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis des Mittelmeerauftriebs. https://img.algaebase.org/pdf/5964B937078c12F062UgMIA2E179/21587.pdf

Lovelock, J. E., Maggs, R. J., & Rasmussen, R. A. (1972). Atmospheric dimethyl sulphide and the natural sulphur cycle. *Nature*, *237*(5356), 452–453. https://doi.org/10.1038/237452a0

Lund, J. W. G., & Lund, J. W. G. (1954). The seasonal cycle of the plankton diatom *Melosira italica Kutz. Subsp subarctica O. Mull*. *Journal of Ecology*, *42*(1), Article 1.

Malitsky, S., Ziv, C., Rosenwasser, S., Zheng, S., Schatz, D., Porat, Z., Ben-Dor, S., Aharoni, A., & Vardi, A. (2016). Viral infection of the marine alga *Emiliania huxleyi* triggers lipidome remodeling and induces the production of highly saturated triacylglycerol. *The New Phytologist*, *210*(1), 88–96. https://doi.org/10.1111/nph.13852

Malviya, S., Scalco, E., Audic, S., Vincent, F., Veluchamy, A., Poulain, J., Wincker, P., Iudicone, D., de Vargas, C., Bittner, L., Zingone, A., & Bowler, C. (2016). Insights into global diatom distribution and diversity in the world's ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *113*(11), E1516–E1525. https://doi.org/10.1073/pnas.1509523113

Mann, D. G. (1981). Sieves and flaps: Siliceous minutiae in the pores of raphid diatoms. In R. Ross (Ed.), *Proceedings of the 6th Symposium on Recent and Fossil Diatoms* (s. 279–300). O. Koeltz, Koenigstein.

Mann, D. G., Crawford, R. M., & Round, F. E. (2016). *Bacillariophyta*. In J. M. Archibald, A. G. B. Simpson, C. H. Slamovits, L. Margulis, M. Melkonian, D. J. Chapman, & J. O. Corliss (Ed.), *Handbook of the Protists* (s. 1–62). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-32669-6_29-1

Martínez, J. M., Schroeder, D. C., Larsen, A., Bratbak, G., & Wilson, W. H. (2007). Molecular dynamics of *Emiliania huxleyi* and cooccurring viruses during two separate mesocosm studies. *Applied and Environmental Microbiology*, *73*(2), 554–562. https://doi.org/10.1128/AEM.00864-06

Michels, J., & Schnack-Schiel, S. B. (2005). Feeding in dominant antarctic copepods - does the morphology of the mandibular gnathobases relate to diet? *Marine Biology*, *146*(3), 483–495. https://doi.org/10.1007/s00227-004-1452-1

Mitchell, J. G., Seuront, L., Doubell, M. J., Losic, D., Voelcker, N. H., Seymour, J., & Lal, R. (2013). The role of diatom nanostructures in biasing diffusion to improve uptake in a patchy nutrient environment. *PLOS ONE*, *8*(5), e59548. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059548

Moebus, K. (1980). A method for the detection of bacteriophages from ocean water. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, *34*(1), 1–14. https://doi.org/10.1007/BF01983537

Moebus, K., & Nattkemper, H. (1981). Bacteriophage sensitivity patterns among bacteria isolated from marine waters. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, *34*(3), 375–385. https://doi.org/10.1007/BF02074130

Mordecai, G., Verret, F., Highfield, A., & Schroeder, D. (2017). Schrödinger's Cheshire Cat: are haploid *Emiliania huxleyi* cells resistant to viral infection or not? *Viruses*, *9*(3), 51. https://doi.org/10.3390/v9030051

Müller, M. N., Barcelos e Ramos, J., Schulz, K. G., Riebesell, U., Kaźmierczak, J., Gallo, F., Mackinder, L., Li, Y., Nesterenko, P. N., Trull, T. W., & Hallegraeff, G. M. (2015). Phytoplankton calcification as an effective mechanism to alleviate cellular calcium poisoning. *Biogeosciences*, *12*(21), 6493–6501. https://doi.org/10.5194/bg-12-6493-2015

Murray, A., & Jackson, G. (1992). Viral dynamics: a model of the effects of size, shape, motion and abundance of single-celled planktonic organisms and other particles. *Marine Ecology progress Series, 89*, 103–116. https://doi.org/10.3354/meps089103

Nagasaki, K., Tomaru, Y., Katanozaka, N., Shirai, Y., Nishida, K., Itakura, S., & Yamaguchi, M. (2004). Isolation and characterization of a novel single-stranded RNA virus infecting the bloom-forming diatom

Rhizosolenia setigera. *Applied and Environmental Microbiology*, *70*(2), 704–711. https://doi.org/10.1128/AEM.70.2.704-711.2004

Nagasaki, K., Tomaru, Y., Takao, Y., Nishida, K., Shirai, Y., Suzuki, H., & Nagumo, T. (2005). Previously unknown virus infects marine diatom. *Applied and Environmental Microbiology*, *71*(7), 3528–3535. https://doi.org/10.1128/AEM.71.7.3528-3535.2005

Nedelcu, A. M., & Michod, R. E. (2003). Sex as a response to oxidative stress: the effect of antioxidants on sexual induction in a facultatively sexual lineage. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *270*(Suppl 2), S136–S139. https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0062

Nelson, D. M., Tréguer, P., 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 Cycles*, *9*(3), 359–372. https://doi.org/10.1029/95GB01070

Ortmann, A., & Suttle, C. (2005). High abundance of viruses in a deep-sea hydrothermal vent system indicates viral mediated microbial mortality. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, *52*, 1515–1527. https://doi.org/10.1016/j.dsr.2005.04.002

* Paasche, E. (2001). A review of the coccolithophorid *Emiliania huxleyi* (*Prymnesiophyceae*), with particular reference to growth, coccolith formation, and calcification-photosynthesis interactions. *Phycologia*, *40*, 503–529. https://doi.org/10.2216/i0031-8884-40-6-503.1

* Pančić, M., & Kiørboe, T. (2018). Phytoplankton defence mechanisms: traits and trade-offs. *Biological Reviews*, *93*(2), 1269–1303. https://doi.org/10.1111/brv.12395

Paul, C., & Pohnert, G. (2011). Interactions of the algicidal cacterium *Kordia algicida* with diatoms: regulated protease excretion for specific algal lysis. *PLOS ONE*, *6*(6), e21032. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021032

Pelusi, A., De Luca, P., Manfellotto, F., Thamatrakoln, K., Bidle, K. D., & Montresor, M. (2021). Virus-induced spore formation as a defense mechanism in marine diatoms. *New Phytologist*, *229*(4), 2251–2259. https://doi.org/10.1111/nph.16951

Pollara, S. B., Becker, J. W., Nunn, B. L., Boiteau, R., Repeta, D., Mudge, M. C., Downing, G., Chase, D., Harvey, E. L., & Whalen, K. E. (2021). Bacterial quorum-sensing signal arrests phytoplankton cell division and impacts virus-induced mortality. *mSphere*, *6*(3), 10.1128/msphere.00009-21. https://doi.org/10.1128/msphere.00009-21

Pondaven, P., Gallinari, M., Chollet, S., Bucciarelli, E., Sarthou, G., Schultes, S., & Jean, F. (2007). Grazing-induced changes in cell wall silicification in a marine diatom. *Protist*, *158*(1), 21–28. https://doi.org/10.1016/j.protis.2006.09.002

Probert, I., & Houdan, A. (2004). The laboratory culture of coccolithophores. In H. R. Thierstein & J. R. Young (Ed.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact* (s. 217–249). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-06278-4_9

Ragueneau, O., Schultes, S., Bidle, K., Claquin, P., & Moriceau, B. (2006). Si and C interactions in the world ocean: importance of ecological processes and implications for the role of diatoms in the biological pump. *Global Biogeochemical Cycles*, *20*(4). https://doi.org/10.1029/2006GB002688

* Raven, J. A. (1983). The transport and function of silicon in plants. *Biological Reviews*, *58*(2), 179–207. https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1983.tb00385.x

Raven, J., & Waite, A. (2004). The evolution of silicification in diatoms: inescapable sinking and sinking as escape? *New Phytologist*, *162*, 45–61. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01022.x

Reynolds, C. S. (2006). The ecology of phytoplankton. *Cambridge University Press.* https://doi.org/10.1017/CBO9780511542145

Rosenwasser, S., Mausz, M. A., Schatz, D., Sheyn, U., Malitsky, S., Aharoni, A., Weinstock, E., Tzfadia, O., Ben-Dor, S., Feldmesser, E., Pohnert, G., & Vardi, A. (2014). Rewiring host lipid metabolism by large viruses determines the fate of *Emiliania huxleyi*, a bloom-forming alga in the ocean. *The Plant Cell*, *26*(6), 2689–2707. https://doi.org/10.1105/tpc.114.125641

Rost, B., & Riebesell, U. (2004). Coccolithophores and the biological pump: Responses to environmental changes. In H. R. Thierstein & J. R. Young (Ed.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact* (s. 99–125). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-06278-4_5

Round, F. E., Crawford, R. M., & Mann, D. G. (1990). Diatoms: biology and morphology of the genera. *Cambridge University Press.*

Rynearson, T. A., Richardson, K., Lampitt, R. S., Sieracki, M. E., Poulton, A. J., Lyngsgaard, M. M., & Perry, M. J. (2013). Major contribution of diatom resting spores to vertical flux in the sub-polar North Atlantic. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, *82*, 60–71. https://doi.org/10.1016/j.dsr.2013.07.013

Salter, I., Kemp, A. E. S., Moore, C. M., Lampitt, R. S., Wolff, G. A., & Holtvoeth, J. (2012). Diatom resting spore ecology drives enhanced carbon export from a naturally iron-fertilized bloom in the Southern Ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, *26*(1), Article 1. https://doi.org/10.1029/2010GB003977

* Sarthou, G., Timmermans, K. R., Blain, S., & Tréguer, P. (2005). Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review. *Journal of Sea Research*, *53*(1), 25–42. https://doi.org/10.1016/j.seares.2004.01.007

Seyedsayamdost, M. R., Case, R. J., Kolter, R., & Clardy, J. (2011). The Jekyll-and-Hyde chemistry of *Phaeobacter gallaeciensis*. *Nature chemistry*, *3*(4), 331–335. https://doi.org/10.1038/nchem.1002

Sheldon, R. W., Prakash, A., & Sutcliffe, W. H. (1972). The size distribution of particles in the ocean. *Limnology and Oceanography*, *17*(3), 327–340. https://doi.org/10.4319/lo.1972.17.3.0327

Shirai, Y., Tomaru, Y., Takao, Y., Suzuki, H., Nagumo, T., & Nagasaki, K. (2008). Isolation and characterization of a single-stranded RNA virus infecting the marine planktonic diatom *Chaetoceros tenuissimus Meunier*. *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(13), 4022–4027. https://doi.org/10.1128/AEM.00509-08

Scholz, B., Guillou, L., Marano, A. V., Neuhauser, S., Sullivan, B. K., Karsten, U., Küpper, F. C., & Gleason, F. H. (2016). Zoosporic parasites infecting marine diatoms – a black box that needs to be opened. *Fungal Ecology*, *19*, 59–76. https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.09.002

Schroeder, D. C., Oke, J., Malin, G., & Wilson, W. H. (2002). *Coccolithovirus* (*Phycodnaviridae*): characterisation of a new large dsDNA algal virus that infects *Emiliana huxleyi*. *Archives of Virology*, *147*(9), 1685–1698. https://doi.org/10.1007/s00705-002-0841-3

Stevens, K., Weynberg, K., Bellas, C., Brown, S., Brownlee, C., Brown, M. T., & Schroeder, D. C. (2014). A novel evolutionary strategy revealed in the phaeoviruses. *PLOS ONE*, *9*(1), e86040. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086040

Steward, G. F., Culley, A. I., Mueller, J. A., Wood-Charlson, E. M., Belcaid, M., & Poisson, G. (2013). Are we missing half of the viruses in the ocean? *The ISME Journal*, *7*(3), 672–679. https://doi.org/10.1038/ismej.2012.121

Suttle, C. A., & Chan, A. M. (1994). Dynamics and distribution of cyanophages and their effect on marine *Synechococcus* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, *60*(9), 3167–3174. https://doi.org/10.1128/aem.60.9.3167-3174.1994

Suttle, C. A., Chan, A. M., & Cottrell, M. T. (1991). Use of ultrafiltration to isolate viruses from seawater which are pathogens of marine phytoplankton. *Applied and Environmental Microbiology*, *57*(3), 721–726. https://doi.org/10.1128/aem.57.3.721-726.1991

Thamatrakoln, K., Talmy, D., Haramaty, L., Maniscalco, C., Latham, J. R., Knowles, B., Natale, F., Coolen, M. J. L., Follows, M. J., & Bidle, K. D. (2019). Light regulation of coccolithophore host–virus interactions. *New Phytologist*, *221*(3), 1289–1302. https://doi.org/10.1111/nph.15459

Tomaru, Y., Shirai, Y., Toyoda, K., & Nagasaki, K. (2011). Isolation and characterisation of a single-stranded DNA virus infecting the marine planktonic diatom *Chaetoceros tenuissimus*. *Aquatic Microbial Ecology*, *64*(2), 175–184. https://doi.org/10.3354/ame01517

Tomaru, Y., Takao, Y., Suzuki, H., Nagumo, T., & Nagasaki, K. (2009). Isolation and characterization of a single-stranded RNA virus infecting the bloom-forming diatom *Chaetoceros socialis*. *Applied and Environmental Microbiology*, *75*(8), 2375–2381. https://doi.org/10.1128/AEM.02580-08

Tomaru, Y., Toyoda, K., Kimura, K., Hata, N., Yoshida, M., & Nagasaki, K. (2012). First evidence for the existence of pennate diatom viruses. *The ISME Journal*, *6*(7), 1445–1448. https://doi.org/10.1038/ismej.2011.207

Toth, G. B., Norén, F., Selander, E., & Pavia, H. (2004). Marine dinoflagellates show induced life-history shifts to escape parasite infection in response to water-borne signals. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *271*(1540), 733–738. https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2654

Tyrrell, T., Holligan, P. M., & Mobley, C. D. (1999). Optical impacts of oceanic coccolithophore blooms. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, *104*(C2), 3223–3241. https://doi.org/10.1029/1998JC900052

Tyrrell, T., & Merico, A. (2004). *Emiliania huxleyi*: Bloom observations and the conditions that induce them. *Coccolithophores*, 75–98, https://doi.org/10.1007/978-3-662-06278-4_4

* Van Donk, E., Ianora, A., & Vos, M. (2011). Induced defences in marine and freshwater phytoplankton: a review. *Hydrobiologia*, *668*(1), 3–19. https://doi.org/10.1007/s10750-010-0395-4

Van Etten, J. L., Burbank, D. E., Xia, Y., & Meints, R. H. (1983). Growth cycle of a virus, *PBCV-1*, that infects *Chlorella*-like algae. *Virology*, *126*(1), 117–125. https://doi.org/10.1016/0042-6822(83)90466-x

Van Etten, J. L., Graves, M. V., Müller, D. G., Boland, W., & Delaroque, N. (2002). *Phycodnaviridae*—large DNA algal viruses. *Archives of Virology*, *147*(8), 1479–1516. https://doi.org/10.1007/s00705-002-0822-6

* Van Etten, J. L., & Meints, R. H. (1999). Giant viruses infecting algae. *Annual Review of Microbiology*, *53*, 447–494. https://doi.org/10.1146/annurev.micro.53.1.447

Van Valen. (1973). A new evolutionary law. *Foundations of Macroecology*. https://doi.org/10.7208/9780226115504-022

Vardi, A., Van Mooy, B. A. S., Fredricks, H. F., Popendorf, K. J., Ossolinski, J. E., Haramaty, L., & Bidle, K. D. (2009). Viral glycosphingolipids induce lytic infection and cell death in marine phytoplankton. *Science*, *326*(5954), 861–865. https://doi.org/10.1126/science.1177322

Waksman, S. A., & Butler, M. R. (1937). Relation of bacteria to diatoms in sea water. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, *22*, 359–373. https://doi.org/10.1017/S0025315400012054

Walde, M., Camplong, C., de Vargas, C., Baudoux, A.-C., & Simon, N. (2023). Viral infection impacts the 3D subcellular structure of the abundant marine diatom *Guinardia delicatula*. *Frontiers in Marine Science*, *9*. https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1034235

Wassmann, P., & Aadnesen, A. (1984). Hydrography, nutrients, suspended organic matter, and primary production in a shallow fjord system on the west coast of Norway. *Sarsia*, *69*(3–4), 139–153. https://doi.org/10.1080/00364827.1984.10420600

Wheeler, G. L., Sturm, D., & Langer, G. (2023). *Gephyrocapsa huxleyi* (*Emiliania huxleyi*) as a model system for coccolithophore biology. *Journal of Phycology*, *59*(6), 1123–1129. https://doi.org/10.1111/jpy.13404

Wilhelm, S. W., & Suttle, C. A. (1999). Viruses and nutrient cycles in the sea: viruses play critical roles in the structure and function of aquatic food webs. *BioScience*, *49*(10), 781–788. https://doi.org/10.2307/1313569

Wilson, W., Etten, J., & Allen, M. (2009). The *Phycodnaviridae*: the story of how tiny giants rule the world. *Current topics in microbiology and immunology*, *328*, 1–42. https://doi.org/10.1007/978-3-540-68618-7_1

Wilson, W. H., Schroeder, D. C., Allen, M. J., Holden, M. T. G., Parkhill, J., Barrell, B. G., Churcher, C., Hamlin, N., Mungall, K., Norbertczak, H., Quail, M. A., Price, C., Rabbinowitsch, E., Walker, D., Craigon, M., Roy, D., & Ghazal, P. (2005). Complete genome sequence and lytic phase transcription profile of a *coccolithovirus*. *Science*, *309*(5737), 1090–1092. https://doi.org/10.1126/science.1113109

Wilson, W. H., Tarran, G. A., Schroeder, D., Cox, M., Oke, J., & Malin, G. (2002). Isolation of viruses responsible for the demise of an *Emiliania huxleyi* bloom in the English Channel. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, *82*(3), 369–377. https://doi.org/10.1017/S002531540200560X

* Wommack, K. E., & Colwell, R. R. (2000). Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *64*(1), 69–114. https://doi.org/10.1128/MMBR.64.1.69-114.2000

Young, J. R., Andruleit, H., & Probert, I. (2009). Coccolith function and morphogenesis: insights from appendage-bearing coccolithophores of the family *Syracosphaeraceae* (haptophyta). *Journal of Phycology*, *45*(1), 213–226. https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00643.x

Ziveri, P., Bernardi, B., Baumann, K.-H., Heather, S., & Mortyn, P. (2007). Sinking of coccolith carbonate and potential contribution to organic carbon ballasting in the deep ocean. *Deep Sea Research Part II Topical Studies in Oceanography*, 659–675. https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2007.01.006