

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra zoologie a rybářství**



**Bioluminiscence u mořských bezobratlých**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Kateřina Stárková**

**Vedoucí práce: Ing. Miloslav Petrtýl, Ph.D.**

© 2015 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Bioluminiscence u mořských bezobratlých" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 16. 4. 2015

---

### **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu bakalářské práce Ing. Miloslavu Petrtýlovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky a hlavně za čas, který mi ochotně věnoval.

# Bioluminiscence u mořských bezobratlých

## Souhrn

Bioluminiscence je chemická reakce probíhající v živých organismech, na jejímž konci dochází k uvolnění fotonu a k produkci viditelného světla. Schopnost produkovat světlo je podmíněna přítomností kyslíku, existencí substrátu a luciferázy, nebo enzymu a luciferázy. Základním substrátem bioluminiscenční reakce je luciferin, který se vyskytuje přímo v buňkách, nebo mezibuněčných prostorech. Luciferáza je enzym, který za účasti ATP katalyzuje oxidační reakci specifického substrátu. Oxidační reakcí se molekula dostává do excitovaného stavu a při návratu do stavu s nižší energií se uvolňuje energie ve formě viditelného světla.

Luciferin a luciferáza jsou někdy dohromady navázány a tvoří fotoprotein jehož aktivita je spuštěna ve chvíli, kdy je do systému dodán určitý iont – nejčastěji vápník, nebo hořčík. Fotoproteiny jsou druhově specifické a patří mezi ně například ekvorin, mitrokomín, obelin, a klytin.

Některých bioluminiscenčních reakcí se také účastní proteiny sloužící jako sekundární emitery. Tyto proteiny absorbují energii z bioluminiscenční reakce a následně ji emitují v podobě světla o větší vlnové délce, které případně lépe proniká vodním prostředím. Příkladem je zelený fluorescenční protein (GFP – green fluorescent protein).

Schopnost bioluminiscence se vyvinula u více než třiceti rodů mořských bezobratlých živočichů, nezávisle na sobě, v důsledku jejich přesídlování do hlubších vod. V hlubokých vodách ztratil luciferin původní roli buněčného antioxidantu a zároveň byl vyvíjen selekční tlak na luciferázy, umožňující nějakou formu mimiker.

Živočichy je schopnost bioluminiscence využívána především k vlastní obraně před predátory formou svého zneviditelnění pomocí konterluminace, nebo aktivní obranou - vypouštěním světelného mračka, které útočnicka oslepí, nebo upoutá pozornost jiných, větších, predátorů. V druhé řadě je využívána samečkami k upoutání partnerky pomocí složitých signálů a také se uplatňuje při vnitrodruhové komunikaci, nebo k získávání potravy.

## Klíčová slova:

světelné orgány, mořské prostředí, komunikace, maskování, bioluminiscence, emise světla, luciferin, symbióza, fotoprotein

# Bioluminescence in marine invertebrates

## Summary

Bioluminescence is a chemical reaction occurring in living organisms, which leads to the release of a photon and leads to the production of visible light. The ability to produce light is conditioned by the presence of oxygen, existence of the substrate and luciferase, or an enzyme and luciferase. Basic substrate of bioluminescent reaction is luciferine which occurs intracellularly or extracellular. Luciferase is an enzyme that catalyzes substrate oxidation reaction with the participation of ATP. Oxidation reaction gets molecule into the excited state and when returning to a lower energy state releases energy in the form of visible light. When luciferin and luciferase are bonded together, creates photoprotein. To activate photoprotein is necessary presence of some ions – most often calcium ions. Photoproteins are species-specific and for example include aequorin, mitrokommin, obelin and klytin.

In some bioluminescent reactions are present proteins as a secondary emitters. These proteins absorb energy from the bioluminescent reaction and convert into the light with longer wavelength. An example is a green fluorescent protein (GFP).

Bioluminescence ability was developed independently more than thirty times in many species of marine invertebrates, due to their shift to deep waters. In deep waters luciferin losted his original role as a cellular antioxidant and also has been developed selection pressure for luciferase, allowing some form of mimicry.

Possibility to be bioluminescent is used primarily to defend themselves against predators through its invisibility using counterillumination, or in active defense – light cloud release to blind the attacker and possibly attract the attention of other, larger predators. Secondly is bioluminescence used by males to attract sexual partner using difficult pattern of light emission, and also applies in intraspecies communication, or to obtain food.

## Keywords:

bioluminescence, marine environment, light emission, luciferin, symbiosis, photoprotein, light organs, communication, camouflage

## Obsah

1	Úvod.....	1
2	Cíl práce.....	2
3	Literární rešerše .....	3
3.1	Objev a výzkum bioluminiscence .....	3
3.1.1	Aristotelův objev.....	3
3.1.2	Robert Boyle .....	3
3.1.3	Raphael DuBois .....	4
3.1.4	Osamu Shimomura .....	4
3.1.5	Roberto Spallanzani .....	5
3.2	Evoluce bioluminiscence .....	6
3.2.1	Barevné spektrum bioluminiscence .....	6
3.3	Mechanismy bioluminiscence .....	8
3.3.1	Obecná charakteristika bioluminiscenční reakce.....	8
3.3.2	Světelné orgány.....	9
3.3.3	Bakteriální bioluminiscence .....	10
3.3.4	Bioluminiscence u mřížovců .....	12
3.3.5	Bioluminiscence u obrněnek.....	12
3.3.6	Bioluminiscence u korýšů.....	14
3.3.7	Bioluminiscence u žahavců .....	15
3.3.8	Bioluminiscence u měkkýšů .....	18
3.3.9	Luminiscence u ostnokožců.....	19
3.3.10	Vznik symbiózou .....	20
3.4	Projevy bioluminiscence .....	21
3.4.1	Obrana.....	23
3.4.1.1	Counterillumination.....	25
3.4.2	Upoutání partnera .....	26
3.4.3	Získávání potravy .....	27
3.4.4	Vnitrodruhová komunikace .....	29
3.5	Význam bioluminiscence pro člověka .....	30
3.5.1	Detekce protein – proteinových interakcí .....	30
3.5.2	Biologické testy .....	30
3.5.3	Bakteriální bioluminiscenční test toxicity .....	30
3.5.4	Biologické světlo .....	31

3.5.5	Rybářství .....	31
4	Závěr .....	32
5	Seznam literatury .....	33

# 1 Úvod

Voda, včetně mořské, má v porovnání s jinými látkami poměrně velkou průhlednost. Sluneční světlo může na otevřeném oceánu teoreticky pronikat až do hloubky okolo jednoho tisíce metrů, avšak skutečnost je závislá na mnoha faktorech: turbiditě (zákalu vody - množství rozptýlených částic ve vodě), množství planktonu, zeměpisné šířce, ročním období i na konkrétní hodině během dne.

Díky značné průhlednosti má také velké množství dravých mořských živočichů velmi dobrý zrak. Jiní živočichové (například medúzy) jsou téměř průhledné a dobře splývají se svým okolím tak, aby nebyly snadno viditelné.

Téměř každý organismus, žijící na volném moři, který není chráněn malou tělesnou velikostí, vysokou únikovou rychlostí, ostrými trny, nebo přítomností toxinů v těle, spoléhá na nějaký způsob „zneviditelnění“. Být „neviditelným“ je však výhodné i pro dravce, který se tak může ke kořisti nepozorovaně přiblížit.

V hloubkách kam sluneční světlo vůbec neproniká, je průhlednost spíše vzácností. Hlubokomořské organismy mívají zbarvení splývající s okolním prostředím – jsou buď tmaví, průsvitní, nebo červení. Červené světlo do těchto hloubek neproniká, takže červená hlubokomořská ryba je ve svém prostředí stejně viditelná jako černoč v tunelu.

Bioluminiscenční organismy obývají nejčastěji mezopelagickou zónu (v hloubkách 200 – 1 000 metrů), kam proniká již jen nepatrné množství záření, vyskytuje se zde maximální koncentrace dusičnanů a fosforečnanů s minimálním množstvím kyslíku – jedná se o vrstvu kyslíkového minima. Tito tvorové jsou schopni produkovat světlo biologickou cestou. Asi 80% z nich má na produkci světla určeny speciální buňky – fotofory, které obvykle obsahují symbiotické světélkující bakterie. Některé fotofory jsou opatřeny dokonce i čočkou pro zesílení účinku luminiscence.

Schopnost svítit ve světě věčné tmy může být využita mnoha způsoby: k přilákání kořisti, ke komunikaci s jinými příslušníky druhu, přilákání sexuálního partnera, nebo k obraně před dravci pomocí oslepujícího záblesku světla. Určité druhy jsou dokonce schopny produkce červeného světla, které ostatní obyvatelé hlubin nevidí a mohou si tak na ně posvítit jako v temné komoře (Harold, 2005).



## **2 Cíl práce**

Cílem práce je tvorba literárního přehledu se zaměřením na typy a principy bioluminiscence u mořských bezobratlých živočichů s ohledem na rozdíly v charakteru a funkci mezi různými skupinami organismů.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Objev a výzkum bioluminiscence

#### 3.1.1 Aristotelův objev

První písemné záznamy o pozorování bioluminiscence se objevují až ve starověku, kde se dochovali formou poezií a lidových písní. Snadno se tedy v čínském písemnictví dočteme o „nočních cestovatelích“, nebo „hořícím mořím“.

Vůbec prvním vědcem, který se zabýval významem přírodních jevů, byl Anaximander (647-611 př. n. l.). Svým smýšlením o přírodních zákonitostech položil základ vědeckého uvažování. Z dalších jeho následovníků jmenujme například Empedoclese (490-430 př. n. l), který vysvětloval světlo jako „vyzařování z oka“. Jeho teorie přetrvávala po mnohá staletí.

V období od Starověkého Řecka byly písemné zmínky o luminiscenčních organismech nespécifické, až do období Aristotela (384-322 př. n. l.). Aristoteles byl prvním, který zaznamenal detailní pozorování tohoto jevu. To, co viděl, popsal jako „samo vyzařování“ a dodal, že tento jev není doprovázen zahříváním organismů. Jeho studijním materiálem byly mrtvé ryby a maso, které byly infikovány bioluminiscenčními bakteriemi (Harvey, 1957).

#### 3.1.2 Robert Boyle

Jeden z velmi významných experimentů vedoucí k pochopení bioluminiscence byl prováděn roku 1667 irským přírodovědcem Robertem Boylem. Prokázal nezbytnost přítomnosti kyslíku pro luminiscenci dřeva a ryb. Experiment se světélkujícím dřevem byl prováděn ve vzduchotěsné nádobě, připojené k vzduchové pumpě.

Dne 29. října 1667 napsal: „*Obstaral jsem si kus dřeva, více či méně velký, který vydává jasné světlo. Dali jsme ho do středně velké schránky a nádobu uzavřeli. Zapnuli jsme připojenou vzduchovou pumpu. Během prvních 5 ti, nebo 6 ti odsátích vzduchu jsme nic nepozorovali, záře vloženého dřeva se prokazatelně nezmenšovala (ačkoli ani předtím nebyla nijak velká). Kolem sedmého odsátí byla záře už jen matná a poté jsme dostali odpověď na naše očekávání. Dřevo ztrácelo své světlo víc a víc, stejně tak, jako byl vzduch stále dál vysáván. Již během desátého vysátí, (i přesto, že jsme vystěhovali všechny svíčky z místnosti a naše oblečení i klobouky byly tmavé) jsme nevnímali vůbec žádné světlo.“ „Načež jsme dřevo vystavili přítomnosti vzduchu a měli to potěšení vidět zdánlivě uhašené světlo se znovu rychle*

*a dokonale oživovat, až to skoro vypadalo jako malý záblesk. „Záře dřeva byla mnohem větší, než kdy předtím.“*

Boyle dokázal, že luminující dřevo, stejně tak jako ryby, je schopno překonat vakuum. Další pokusy na stejném principu opakoval s rozžhaveným kouskem železa a uhlí, jejichž výsledky následně srovnával s předchozími a vyvodil z nich několik závěrů. Například jmenujme zjištění, že svítící kus dřeva i hořící uhlí je schopno ze sebe vydávat přechovávané světlo a nefungují tedy na principu odražení světelných paprsků, jako je tomu v případě skla. Dále připomíná, že pokud umístěním světélkujících organismů do vakua dojde k zastavení produkce světla, nemusí to nutně znamenat, že je vzduch nezbytný k fotogenickým procesům, nýbrž se může jednat pouze o vyrušení některých funkcí buněk. Avšak pokud z buněk extrahujeme samotné luminiscenční látky a celý pokus zopakujeme se stejným výsledkem, můžeme si být jisti, že samotný luminiscenční proces vyžaduje volný kyslík (Harvey, 2010).

### **3.1.3 Raphael DuBois**

Raphael Dubois v roce 1885 učinil velký pokrok v oblasti pochopení chemických procesů probíhajících během bioluminiscence. V experimentu ukázal, jaký má vliv teplota vody na tento proces. Část luminiscenčního orgánu kovařika svítivého *Pyrophorus noctilucus* (Linnaeus, 1758) ponořil do horké vody, načež luminiscence ustala a již se znovu neobjevila. Také pokud luminiscenční orgán rozemlel, světlo se z něj pomalu vytrácelo, ale po jeho kontaktu s jiným, zahřátým, luminiscenčním orgánem opět produkoval světlo. Později provedl stejný experiment se skulařem vrtavým *Pholas dactylus* (Linnaeus, 1758). Jeho světelná tkáň byla extrahována do teplé a studené vody kde byla ponechána, dokud nepřestala svítit a následně byly oba vzorky smíchány dohromady. Pokrokem v teorii bylo zjištění, že luciferin obsažený v substanci nebyl zničen zahříváním a stále mohl produkovat světlo oxidací za přítomnosti enzymu luciferázy. Luciferáza však vlivem zahřívání degraduje a stává se neaktivní.

### **3.1.4 Osamu Shimomura**

Důležitý výzkum, bez kterého by k objevení ekvorinu (anglicky aequorin) pravděpodobně nedošlo, byl prováděn u lasturnatky *Cypridina*, informace zde získané byly důležité pro pozdější objev (Shimomura, 2005). K objevení ekvorinu došlo v roce 1961.

Původním cílem výzkumu bylo pouze nalezení této luminiscenční látky, avšak zároveň byl jako vedlejší produkt objeven i zelený fluorescenční protein (GFP). Významnost objevu těchto dvou proteinů se prokázala až v průběhu dalších studií o 40 let později. Dnes je ekvorin využíván jako sonda vápníku a GFP slouží jako proteinový marker (Shimomura, 2005).

### **3.1.5 Roberto Spallanzani**

Roku 1745 Roberto Spallanzani prokázal, že část těla medúzy, která je vysušená, nevydává žádné světlo. Pokud je však opět hydratována, může vydávat světlo jako dříve. Tím byl doložen důkaz, že pro luminiscenci jsou nezbytné určité komponenty, jako je kyslík, voda a některé fotogenické látky. Následně tento experiment opakoval s mnoha dalšími formami bioluminiscence a zároveň prokázal, že luminiscence není pro život nezbytný proces, jako je například vedení nervových vzruchů. Zatímco nerv při vysoušení, nebo maceraci ztrácí svoji charakteristickou vlastnost, tedy vedení vzruchů, na funkci světelných buněk nemají takovéto procesy žádný vliv (Harvey, 2010).

## 3.2 Evoluce bioluminiscence

Předpokládá se, že chemická reakce bioluminiscence, která je dnes využívána organismy především ke komunikaci, nebyla původně určena k tomuto způsobu využití. Podle některých experimentů a studií měl luciferin hlavní úlohu jako vnitrobuněčný antioxidant působící jako pohlcovač toxických látek vznikajících při běžných buněčných procesech a chránil tak buňku před oxidačním stresem (Dubuisson a kol., 2004). Různí mořští živočichové využívají luciferinový analog nazývaný coelenterazin, který prokazatelně slouží jako silný buněčný antioxidant (Dubuisson a kol., 2004). Dle Dunlapa (2009) byla původně luciferáza sekundárním produktem v dýchacím řetězci.

Bioluminiscenční reakce se u živočichů v průběhu evoluce objevují nezávisle na sobě více než u třiceti druhů. Tento fakt naznačuje, že schopnost bioluminiscence není evolučně nijak náročná a s jejím náhodným výskytem je možno počítat i do budoucna (Dubuisson et al., 2004).

Důkazy o výskytu rozdílných luminiscenčních reakcí nebyly doloženy pouze na úrovni taxonu, ale také v rámci jednotlivého druhu. Například u samic *Linophryne coronata* (Parr, 1927) je využíván jiný systém luminiscence, než u samců (Widder, 2010).

Evoluci bioluminiscence lze rozdělit do dvou kategorií. Jedna se řídí výskytem substrátu a druhá dle enzymu, který je v reakci využíván. V evoluci substrátu luciferinu pravděpodobně hrála velkou roli postupná změna způsobu života jeho nositelů, kteří ve snaze uniknout predátorům přesídlovali do hlubších vod s nižším obsahem  $O_2$  a  $H_2O_2$ . V důsledku toho ztratil luciferin (především coelenterazin) svůj původní význam jako antioxidant a začal nabývat chemiluminiscenčních vlastností (Rees a kol., 1998).

V druhém případě - v evoluci enzymů (luciferáz) hrál hlavní roli stejný faktor - přesun do hlubších vod, kde se původně viditelní živočichové staly „neviditelnými“ a jejich barevné skvrny, sloužící jako mimikry k přilákání partnera nebo odpuzení predátora ztratily význam. Stejně tak byl tedy vyvíjen vyšší selekční tlak i na enzym, který umožňoval zviditelnění (v tomto případě světelné) (Widder, 1999; Seliger, 1993).

### 3.2.1 Barevné spektrum bioluminiscence

Denní světlo v mořském prostředí je charakteristické tím, že v něm převládá modré barevné spektrum (pokud má voda nízkou turbiditu). Také zrak mořských živočichů se adaptoval tomuto faktu a zdá se, že bioluminiscence tento trend následovala. Avšak převládající barva luminiscence je spíše modro – zelená. Tyto dvě barevné složky luminiscence

maximalizují efekt šíření signalizace - je nejen dobře viditelná ostatními živočichy, ale také se dobře šíří vodním prostředím (Herring, 1996).

Červené luminiscenční orgány vydávají úzkopásmové záření o maximální délce 700nm, které je vytvářeno stejnou chemickou reakcí jako modré světlo, pouze se na ní podílí červený fluorescent obsažený ve světelných orgánech a červený „filtr“ na povrchu, který absorbuje až 80% vydávané energie (Herring, 196).

Někteří živočichové, obzvláště medúzy, využívají v luminiscenčních buňkách současně zelený fluorescenční protein a vyzařují zelené světlo. Zatím není jasné, jestli je to důsledek působení pobřežního prostředí mělkých vod, kde se zelená barva lépe šíří, nebo mechanismus k zesílení světelné záře. Možná je pro maximalizaci šíření světla důležitější vydávat jasně zelené světlo, než slabě modré v případě, že jsou zdejší živočichové citlivější k jinému barevnému spektru (Herring, 1996).

### 3.3 Mechanismy bioluminiscence

#### 3.3.1 Obecná charakteristika bioluminiscenční reakce

Bioluminiscence je spojením chemiluminiscence v živých organismech a produkce dostatečného množství fotonů pro tvorbu viditelného světla (Herring, 1996).

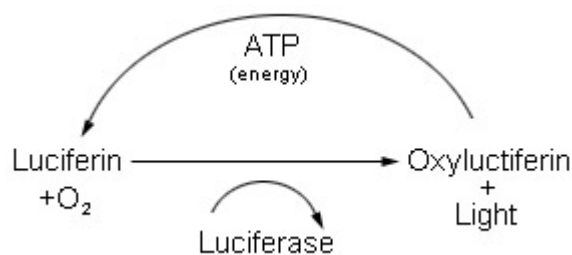
Všechny bioluminiscenční reakce mají několik charakteristických rysů, z nichž první je ten, že probíhají pouze za přítomnosti kyslíku (Krinke a kol., 1999). Dle Dubuissona (2004) je důkazem spojitosti bioluminiscenčních reakcí s metabolismem kyslíku to, že jsou fotocyty, světelné buňky sloužící k usměrnění a soustředění světla, baleny dohromady s tracheálními terminály a mitochondriemi.

Dále je zapotřebí existence dvou složek - substrátu a luciferázy, nebo enzymu a luciferázy, přičemž dochází k oxidaci luciferinu - základního substrátu reakce, který produkuje světlo. Struktura těchto látek se u různých skupin organismů liší.

Luciferin je souhrnný název pro různé látky, nejčastěji alkoholy, aldehydy, benzothiazoly a flaviny. Vyskytuje se přímo v buňkách nebo mezibuněčných prostorách a při jeho oxidaci enzymem luciferázou se uvolňuje světelné záření. Za většinu bioluminiscenčních reakcí jsou zodpovědní čtyři druhy luciferinu. Mnoho dalších zatím nebylo objeveno (Haddock, 2010). Luciferin je v organismech syntetizován nebo přijímán potravou (Krinke a kol., 1999).

Luciferáza katalyzuje oxidační reakci specifického substrátu kyslíkem za spolupůsobení ATP. Oxidace je reakce kdy se jeden substrát vzdá elektronů (redukuje se) a poskytuje své elektrony jinému substrátu (oxiduje ho). Oxidační reakcí se dostává molekula do excitovaného stavu. Když pak dochází k návratu do stavu s nižší energií, uvolňuje se energie ve formě viditelného světla (Krinke a kol., 1999).

Obecnou rovnicí bioluminiscence lze znázornit takto:



Na rozdíl od fosforescence, nebo fluorescence, které jsou závislé na absorbování dostatečného množství fotonů, chemická reakce účastníci se luminiscence musí být sama dostatečně silná, aby byla schopna vyprodukovat samostatnou excitovanou molekulu, která při návratu do původního stavu vyprodukuje viditelný foton (Widder, 2010).

Luciferin a luciferáza jsou někdy dohromady navázány a tvoří tak fotoprotein. Aktivita fotoproteinu je spuštěna ve chvíli, kdy je do systému dodán určitý iont, kterým je nejčastěji vápník, nebo hořčík. Příkladem fotoproteinů, které po navázání vápenatých iontů emitují světlo, jsou ekvorin, obelin, mitrokomín a klytin. Některé z nich jsou dnes využívány k měření koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  (Krinke a kol., 1999).

V některých bioluminiscenčních systémech slouží příslušné proteiny jako sekundární emitory, které luminiscenční světlo převedou do delších vlnových délek. Nejznámější z nich je zelený fluorescenční protein (GFP – green fluorescent protein) (Shimomura, 2006).

Obecně můžeme luminiscenční organismy rozdělit do dvou tříd podle toho, jestli je oxidovatelný materiál spalován v buňce, kde je vytvářen – intracelulární luminiscence, nebo ve vnějších prostorech – extracelulární luminiscence. Většina živočichů s intracelulární luminiscencí má pro tento účel vytvořeny dosti složité světelné orgány (Harvey, 2010).

Schopnost luminiscence závisí na vlastnění lux genů. Lux operon, který kóduje geny pro autoregulaci a produkci luminiscenčních proteinů, sestává z pěti základních genů – luxA, luxB, luxC, luxD a luxE (Durand et al., 2010).

### 3.3.2 Světelné orgány

Fotofory jsou složité orgány, které živočichům slouží k modifikaci vyzařovaného světla. Základem jsou fotocyty – světelné buňky ve kterých probíhá bioluminiscenční reakce. Někdy jsou přítomny i struktury nazývané fotogenické krystaloidy, které jsou považovány za místo vzniku bioluminiscence. Orgány často obsahují světelné filtry, jejichž součástí jsou pigmenty umístěné mezi tkáněmi. Tyto filtry se vyznačují velkou variabilitou absorpce světla a obsahem různých pigmentů červené, fialové, nebo modré barvy. Ventrální fotofory (umístěné na břišní straně) produkují světlo modré barvy, podobající se dennímu světlu, které se nejlépe šíří vodním prostředím. V přítomnosti filtru červeného odstínu je vytvářené modro - zelené světlo z velké části pohlcováno barevným filtrem, který pokrývá orgán na jeho povrchu.

Důležitou součástí světelných orgánů jsou chromatofory. Jde o pigmentové buňky sloužící k absorpci světla produkovaného ve světelných buňkách. Zamezují šíření světla



špatným směrem, nebo ve špatnou chvíli, kdy je nutné světelný orgán vypnout. Směr vyzařovaného světla je ovlivňován čočkami, které v orgánech existují v podobě různých struktur, z nichž některé se skutečně podobají optickým čočkám, u jiných je způsob jejich fungování nejistý. Pomocnou strukturou udávající směr světla jsou světlovody, které fungují podobně jako optická vlákna. Reflektory jsou struktury na zadní straně orgánu, které odrážejí světlo směrem ven. Širokopásmé reflektory odrážejí veškeré světlo, zatímco úzkopásmové reflektory odrážejí pouze světlo specifické vlnové délky (a tedy i barvy). Světlo, které se od reflektoru neodrazí, je absorbováno chromatofory, které obvykle reflektor obklopují. Někdy se vyskytují i sekundární reflektory, které kontrolují správnost směru odráženého světla (Young, 1982), (Denton et al., 1985).

### 3.3.3 Bakteriální bioluminiscence

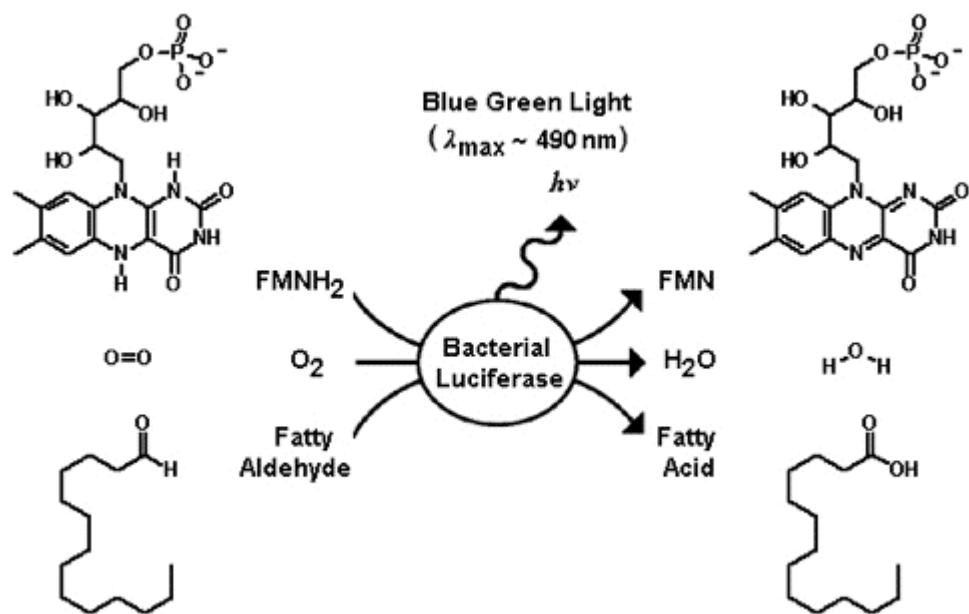
V bakteriální bioluminiscenci hrají roli dva jednoduché substráty - FMNH<sub>2</sub> (redukovaný flavin mono nukleoid) a RCHO (aldehyd s dlouhým řetězcem), které jsou oxidovány kyslíkem a katalyzovány luciferázou [Obr. 1], enzymem, který je složený ze dvou podjednotek „a“ a „b“, které jsou kódovány geny luxA a luxB (Durand et al., 2010).

Syntéza RCHO je katalyzována reduktázovým komplexem mastné kyseliny, sestávajícím ze tří polypeptidů – NADPH, acyl transferázy a ATP, které jsou kódovány geny luxC, luxD a luxE. Aldehyd RCHO je během reakce spotřebováván a zároveň kontinuálně vytvářen bakterií, čímž nemůže dojít k jeho vyčerpání (Dunlap, 2009).

Rovnici definující bakteriální bioluminiscenci lze vyjádřit takto:



*Vibrio fischeri* (Beijerinck, 1889) získává FMNH<sub>2</sub> oxidací NADH<sub>2</sub>, vznikající karboxylová kyselina je následně recyklována zpětnou redukcí na aldehyd za spotřeby další molekuly NADH<sub>2</sub>. K bioluminiscenci je tedy zapotřebí dvou molekul NADH<sub>2</sub>, což je energeticky poměrně náročné (Rychlík a kol., 2000).



**Obr. 1** bakteriální bioluminiscenční reakce (převzato z: [microbewiki.kenyon.edu](http://microbewiki.kenyon.edu))

Při přebytku bakteriálních činidel je intenzita světla přímo úměrná koncentraci redukovaných pyridinových nukleotidů (NADH, nebo NADPH) (DeLuca and McElroy, 1983).

Při přeměně chemické energie na viditelné světlo bakterie spotřebují přibližně 10% metabolické energie, využívají k tomu elektronový transportní systém. Tato přeměna je spojena s buněčným dýcháním. Změna buněčného metabolismu nebo porušení buněčné struktury ovlivňuje dýchání a tedy i intenzitu bioluminiscence. Produkce světla souvisí se zdravotním stavem organismu (Kafka, Punčochářová, 1999).

Bakterie vyzařují stálé světlo pouze v přítomnosti dostatečného množství kyslíku a pouze tehdy, když je bakteriální populace dostatečně velká. Rozhodují se na základě quorum sensing, což je typ rozhodovacího procesu využívaný decentralizovanými skupinami organismů k jednotné reakci. V případě bakterií slouží ke koordinaci své genové exprese v závislosti na místní hustotě populace (Haddock et al., a, 2010). Auto inducery umožňující quorum sensing jsou produkovány uvnitř bakterií a jsou vylučovány do mezibuněčných prostor. Při jejich dostatečné koncentraci v mezibuněčných prostorech mohou vyvolat expresi genů luxA, B, C, D, E (Lin and Meighen, neznámý rok). Po tomto procesu bakterie produkuje 100 – 1000 násobně větší množství luciferázy a je schopna vydávat  $10^3 - 10^6$  krát větší emisi světla (Dunlap, 2009).

Systematické zařazení:

Kmen: Proteobacteria

Čeleď: Vibrionaceae

Rod: *Vibrio*

*Photobacterium*

*Alteromonas*

*Photorhabdus*

(Durand et al., 2010)

Jedním z nejčastějších zástupců je *Vibrio harveyi*. Vyskytuje se ve volném moři mnohem častěji než *V. Fischeri* a jako komenzál je přítomný ve střevním traktu mořských ryb a na povrchu těl korýšů se vyskytuje v dostatečně velkém množství pro spuštění bioluminiscence. Bylo zjištěno, že bioluminiscence u *V. harveyi* může být stimulována i bakteriemi jiného rodu, například *E. Coli* nebo *S. Typhimurium*. Pravděpodobně je tomu tak z důvodu jeho adaptace na život ve střevním traktu ryb, kde přijde do styku s další mikroflórou. Přítomnost komunikačního systému se širokou specifitou je pro něj tedy velmi výhodná (Rychlík a kol., 2000).

*Photobacterium* (Beijerinck, 1889) využívají přibližně 10 % metabolické energie při přeměně energie chemické na viditelné světlo pomocí elektronového transportního systému. Uvedená přeměna je spojena s buněčným dýcháním. Změna buněčného metabolismu nebo porušení buněčné struktury ovlivňuje dýchání a tedy i intenzitu bioluminiscence (Kafka, Punčochářová, 1999).

#### **3.3.4 Bioluminiscence u mřížovců**

Ze všech mřížovců je bioluminiscence známa pouze u řádu Collodaria. V luminiscenční reakci se uplatňuje fotoprotein coelenterazin, který je nutný aktivovat vápníkem. I přesto, že mřížovci patří mezi prvoky, jsou schopni fotoprotein získávat potravou (Haddock, 2010).

#### **3.3.5 Bioluminiscence u obrněnek**

Chemická struktura luciferinu u obrněnek (tetrapyrolu) je podobná chlorofylu, což je pravděpodobně důsledkem toho, že bioluminiscence vznikala u druhů schopných

fotosyntézy (Widder, 2010). Ačkoli je u nich způsob biosyntézy luciferinu neznámý (Liu, Hastings, 2007) je prokázána závislost syntézy na jejich výživě krillem – drobnými korýši, kteří obývají oceány (Haddock et al., b, 2010).

U obrněnek je luciferin a luciferáza uložena dohromady ve zvláštních organelách – scintillonech. Pokud je buněčná stěna těchto orgánů propnutá, nebo naopak prohnutá, přítomné vodíkové ionty urychlují spouštění světelných záblesků (Widder, 2001). Světélkující částice obrněnek byly poprvé izolovány u *Gonyaulax polyedra* (Dodge, 1989) (DeSa, Hastings, 1968).

*Pyrodinium bahamense* se vyskytuje trvale ve vysokých koncentracích v Oysterském zálivu – asi 10 000 000 mikroorg. / l, kde vytváří červená ohniska v pobřežních vodách (Seliger et al., 1970).

Systematické zařazení druhů:

Kmen: obrněnky (*Dinozoa*)

Infrakmen: obrněnky (*Dinoflagellata*)

Třída: Dinophyceae

Rod: Sphaerodinium

Ceratium

Gonyaulax

Pyrodinium

Peridinium

Diplopsalis

Blepharocysta

Prorocentrum

Amphidinium

Cochlodinium

Gymnodinium

### 3.3.6 Bioluminiscence u korýšů

Produkce světla u lasturnatek vyplývá z relativně jednoduché extracelulární reakce, která zahrnuje tři komponenty – cyprinidinový luciferin jako substrát, luciferázu a kyslík přijímaný z mořské vody. Intenzita vydávaného světla je v tomto případě přímo úměrná množství substrátu (luciferinu) (Rivers and Morin, 2012).

U lasturnatek je role luciferinu zastoupena vargulinem, který je organizmem syntetizován z aminokyselin tryptofanu, isoleucinu a argininu (Hastings, 1983).

Samečci *Photeros annecohenae* [Obr. 2] využívají extracelulární luminiscence při složitých námluvách nebo stejně jako samičky při obraně před predátory. V porovnání jsou energetické náklady spojené s obranou asi 50 krát vyšší, než bioluminiscence spojená s námluvami. Aby došlo k úplnému vyčerpání zdrojů pro luminiscenci, muselo by dojít asi k 450 ti typickým projevům námluv, nebo deseti průměrným obranným reakcím (Rivers and Morin, 2012).



Obr. 2 *Photeros annecohenae* (převzato z: <http://mrlowndes.com/>)

Systematické zařazení druhů:

Kmen: Arthropoda

Podkmen: korýši (*Crustacea*)

Třída: ostracoda

Rod: Cypridina

Druh: *Cypridina noctiluca* (Kajiyama, 1912)

Rod: Conchoecia (Dana, 1849)

Rod: Vargula

Druh: *Vargula hilgendorffii*

Podtřída: klanonožci (*Copepoda*)

Rod: Metridia, Leuckartia, Pleuromma, Oncaea, Heterochaeta.

Třída: rakovci (*Malacostraca*)

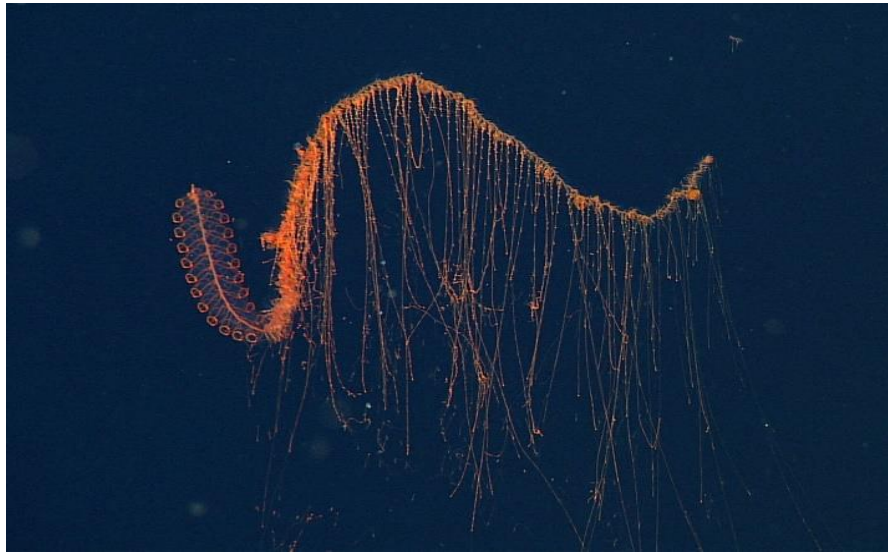
Rod: Nyctiphanes, Nematoscelis, Gnathophausia, Euphausia, Stylochiron, Boreophausia, Mysis, Sergestes, Aristeus, Heterocarpus, Hoplophorus, Acanthephyra, Pentacheles, Colossendeis

### 3.3.7 Bioluminiscence u žahavců

Žahavci využívají k aktivaci bioluminiscence systém, který je nutný aktivovat vápenatými ionty za spolupůsobení coelenterazinu. Rozdíly v aminokyselinových sekvencích fotoproteinu mohou způsobit změny ve vlnových délkách světelného spektra. Luminiscence tedy může být potencionálně ovlivňována selekčním tlakem působícím na geny, které kódují fotoprotein (Haddock and Case, 1999).

Nejnámějším zástupcem je *Aequorea victoria* (Murbach & Shearer, 1902), ze které byl extrahován fotoprotein ekvorin a následně objeven GFP protein. GFP protein je doplňkovým proteinem, který přijímá energii z bioluminiscenční reakce a následně ji emituje jako světlo o delší vlnové délce (Haddock et al., 2005).

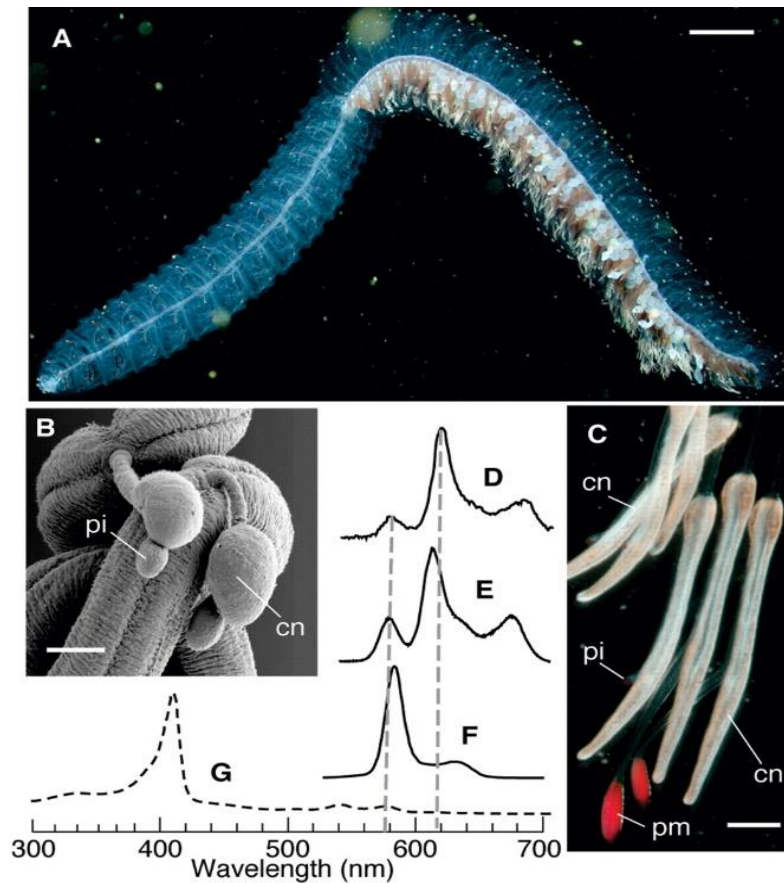
Trubýši, koloniální polypovci, jsou v oceánech dominantními predátory. *Erenna* sp. [Obr. 3] loví ryby pomocí bohatě větvených chapadel, na jejichž koncích jsou umístěny fotofory emitující červené světlo (Haddock et al., 2005).



*Obr. 3 Bioluminescence u Erenna sp. (převzato z: <http://www.wired.com>)*

Fotofory na mladých chapadlech obsahují pouze bioluminiscenční tkáň, která vydává modro – zelené světlo. Teprve když chapadla dozrají, je tkáň obklopena červeným luminiscenčním materiálem [Obr. 4]. Finální substance je schopna emitovat světlo od žluté až po červenou barvu. Fluorescenční materiál rodu *Erenna* zřejmě nepatří do rodiny zelených fluorescenčních proteinů, ale spíše je podobný porfyrinům nalezených u medúz a ryb (Haddock et al., 2005).

Vzhledem k charakteru pohybů, které provádí svými bioluminiscenčními vlákny je na místě se domnívat, že je používá jako návnady k přilákání ryb. Avšak tvrzení, že červené bioluminiscenční světlo může působit jako atraktant je v rozporu s převládajícím názorem, že hlubokomořští živočichové nemohou detekovat dlouhé vlnové délky, mezi které červené světlo patří (Haddock et al., 2005).



**Obr. 4** *Erenna* sp. (A), (B) nezralý fotofor (pi), (C) dozrálé fotofony (pm).  
(převzato z: <http://www.sciencemag.org/>)

Systematické zařazení:

Kmen: žahavci (*Cnidaria*)

Třída: polypovci (*Hydrozoa*)

Rod: Eutima, Phyalidium, Aglaophenia, Campanularia, Sertularia, Plumularia, Cellularia, Valkeria, Obelia, Clytia, Geryonia, Lyriope, Aglaura, Cunina, Sarsia, Abyla, Praya, Diphyes, Eudoxia, Hippopodius

Třída: medúzovci (*Scyphozoa*)

Rod: Pelagia, Aurelia, Chrysaora, Rhizostoma, Cyanaea, Dianeia, Mesonema

Třída: korálnatci (*Anthozoa*)

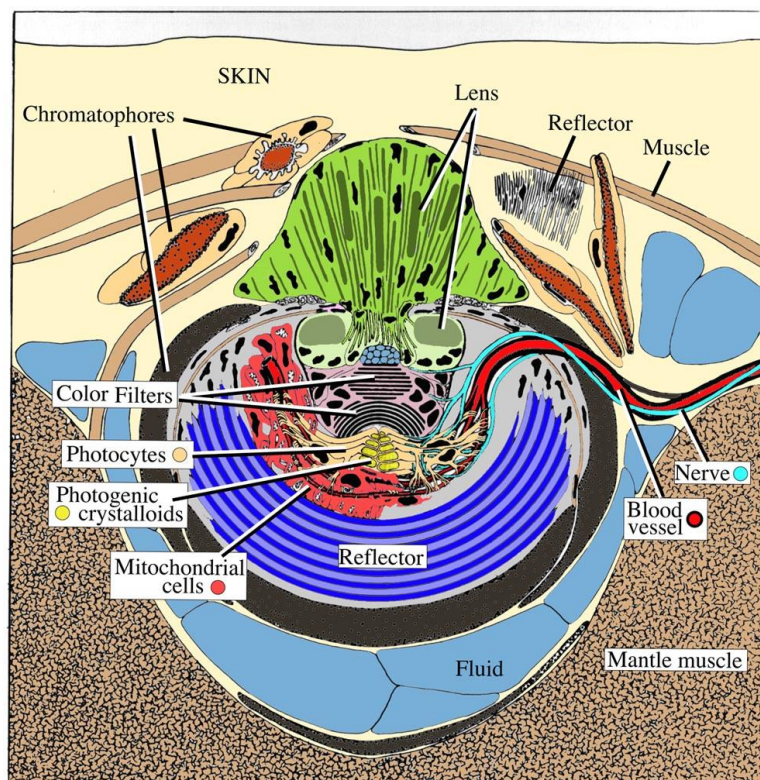
Rod: Alcyonium, Gorgonia, Isis, Mopsea, Pennatula, Pteroides, Veretillum, Cavernularia, Renilla, Pavonaria, Stylobelemon, Umbellularia,



Virgularia, Pleurobranchia, Mnemiopsis, Bolinopsis, Leucothea, Cestus,  
Beroë

### 3.3.8 Bioluminescence u měkkýšů

U měkkýšů je bioluminescence nejvíce zastoupena mezi hlavonožci. Mnoho z nich ke zvýšení účinnosti bioluminescence využívá komplikované orgány [Obr. 5] (Johnsen et al., 1999). Světelné orgány jsou mezi hlavonožci velmi variabilní. Některé jsou velmi malé (0,2 mm v průměru) a stavbou složité jako oko některých živočichů. Jiné jsou větší (až 5 cm). Struktura je u některých orgánů velmi jednoduchá – jsou přítomny pouze v podobě světelných buněk. Složitější modifikace světelných orgánů obsahují buňky produkující světlo, které jsou obklopeny reflektory (tzv. zrcadlo odrážející produkované světlo), čočkami, světlovody, barevnými filtry a svaly. Tyto světelné orgány jsou většinou schopné aktivně přizpůsobovat barvu, intenzitu a úhlové uspořádání produkovaného světla. Většina oceánských hlavonožců produkuje světlo vlastní chemickou reakcí, která probíhá v buňkách. Oproti tomu hlavonožci obývající neritickou zónu nejsou schopni vlastní produkce světla a využívají symbiotické bioluminiscenční bakterie (Young, 1982).



**Obr. 5** Složitý světelný orgán u *Abralia trigonura*. (převzato z: <http://tolweb.org/>)

Mezi chobotnicemi jsou prokazatelně schopni bioluminiscence pouze dva rody - *Japetella* a *Eledonella*. U těchto rodů jsou světelné orgány nejčastěji umístěny v kruhu kolem ústního otvoru a u báze ramen. U hlubokomořské chobotnice *Stauroteuthis syrtensis* (Verrill, 1879) jsou fotofory tvořeny modifikací přísavek na chapadlech. Fotofory jsou uspořádány v jedné řadě kolem ústního otvoru. Na povrchu každého ramene se vyskytuje asi 40 fotoforů vydávajících modro – zelené světlo. Při kontinuální stimulaci vydávají nepřetržité světlo malé intenzity do vzdálenosti 5 mm, které po čase slábne, nebo nesynchronně silně a krátce blikají (Johnsen et al., 1999).

Na základě anatomického uspořádání světelných orgánů, charakteristice vyzařovaného světla a způsobu života chobotnic se lze domnívat, že má u těchto živočichů bioluminiscence více významů. Mimo obrany může sloužit také k sexuální atrakci a jako světelná návnada k lovu. Důležitým faktem je, že u některých druhů jsou luminiscence schopny pouze dospělé samice (Johnsen et al., 1999).

Někteří bioluminiscenční měkkýši ovládají schopnost produkce světla různých barev. Ve většině případů toho dosahují pomocí zapojování různých druhů fotoforů z nichž každý vydává jiné barevné spektrum (Herring et al., 1992).

### 3.3.9 Luminiscence u ostnokožců

Luminiscence u ostnokožců je převážně využívána k obraně před predátory. Jediným biologickým faktorem ovlivňujícím intenzitu bioluminiscence je rozdílná pigmentace v podélném průběhu ramen ostnokožců (Deheyn et al., 1997).

Bioluminiscenční chemické reakce se v závislosti na konkrétním druhu živočicha účastní protein, který je doposud neznámý, koelenterazin a luciferázy. Nejčastěji se vyskytuje u hlubokomořských druhů (Haddock et al., 2010).

Systematické zařazení:

Kmen: ostnokožci (*Echinodermata*)

Třída: hadice (*Ophiuroidea*)

Rod: *Ophiopsila*, *Amphiura*, *Ophiacantha*, *Ophiothrix*, *Ophionereis*

Třída: ježovky (*Echinoidea*)

Třída: sumýši (*Holothuroidea*)

Třída: lilijice (*Crinoidea*)

### 3.3.10 Vznik symbiózou

V případě vzniku luminiscence bakteriální symbiózou muselo u každého živočicha dojít k vytvoření speciálních světelných orgánů- fotoforů, které slouží jako hostitelské místo pro bakterie (Haddock a kol., b, 2010).








V symbióze s jinými organismy můžeme často nalézt bioluminiscenční bakterie které obývají světelné orgány bohaté na živiny. V případě symbiózy s některými druhy ryb došlo k vývinu regulačních mechanismů BL. Příkladem jsou fotofory, jejichž luminiscence je regulována pohyblivou kožní záklopkou (Widder, 2001).


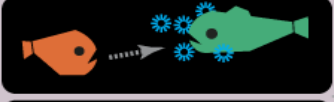


Příkladem živočichů, využívající symbiotické bakterie je čertovník jordanův *Caulophryne jordani* (Goode and Bean 1896) a sepiola kropenatá *Euprymna scolopes* (Berry 1913) (Widder, 2001).


### 3.4 Projevy bioluminiscence

Bioluminiscence není snadná ke studiu, neboť v laboratorních podmínkách nelze simulovat všechny biologické faktory nutící organismy k použití luminescence. Mnoho etologických pozorování je realizováno za použití ponorek či dálkově řízených přístrojů, které i přes to nezaručují úspěšnost pozorování. V současné době je také možno provádět pozorování za použití nové metodiky využívající červeného světla a vysokorychlostních kamer, avšak náklady na prováděná pozorování jsou poměrně vysoké (Widder, 2010).

Mnoho funkcí bioluminiscence odráží unikátní vlastnost prostředí, ve kterém se organismy vyvinuly. Otevřený oceán je prostředí bez úkrytů, kde prostupnost slunečního záření klesá na každých 75 metrů hloubky asi desetinásobně, dokud po 1000 m úplně nezmizí. Aby se živočichové ukryli před možnými predátory, podnikají každodenní vertikální migrace. Během dne směrem dolů, do temných hlubin a během noci zpět do povrchové vrstvy, která je bohatá na potravu. V důsledku těchto migrací většina bioluminiscenčních organismů žije svůj život ve tmě, kde jim bioluminiscence umožňuje přežít alespoň v některých kritických situacích [Obr. 6] (Widder, 2010).

DEFENSE		startle	dinoflagellates, squid, stern-chaser myctophid
		counterillumination	<b>many:</b> crustaceans, fish, squid
		misdirection: smoke screen	<b>many:</b> crustaceans, polychaetes scyphozoans, chaetognaths, squids, tube-shoulder fishes, ctenophores, siphonophores, larvaceans?
		distractive body parts	<i>Octopoteuthis</i> squid, brittle stars, polychaetes, siphonophores
		burglar alarm	dinoflagellates, jellies, other?
		sacrificial tag	pelagic sea cucumbers, jellies, polychaetes
		warning coloration (deter settlers)	jellies, brittle stars? (tube worms, clam)

OFFENSE		lure prey (attract host: bacteria)	anglerfishes, siphonophores, cookie cutter shark, squid?
		lure with external light (evaluate habitat?)	sperm whale? megamouth shark?
		stun or confuse prey	squid, headlamp myctophid?
		illuminate prey	flashlight fish, dragonfishes

	mate attraction/ recognition (swarming cue)	ostracods, <i>Japetella</i> octopus? lanternfish, flashlight fish, anglerfish? syllid polychaetes, others?
---	---	--

**Obr. 6** Ilustrace zobrazující různé způsoby využití bioluminiscence. V modrém poli jsou zobrazeny mechanismy sloužící k obraně. Od shora: **Vylekání útočníka** (obrněnky, chobotnice), **koulerluminescence** (koryši, ryby, chobotnice), **zmatení pomocí kouřové clony** (koryši, mnohoštětinatci, medúzovci, ploutvenky, chobotnice, žebnatky, trubýši), **distraktilní část těla** (krakalice, *Ophiotrix fragilis*, mnohoštětinatci, trubýši), **poplašný signál** (obrněnky, medúzy), **odvržení luminiscenční části** (pelagické mořské okurky, medúzy, mnohoštětinatci), **varovné zbarvení** (medúzy, hadice). V červeném poli jsou zobrazeny mechanismy sloužící k útoku. Od shora: **použití návnady za pomoci luminiscenčních bakterií** (mořský d'as, trubýši, chobotnice, žraloček brazilský), **použití návnady z externího zdroje světla** (vorvaň, žralok velkoustý), **zmatení kořisti** (chobotnice), **ozáření kořisti** (světloočka Steinitzova, světloňoš hlubokomořský). Poslední pole: **upoutání / rozpoznání partnera** (lasturnatky, chobotnice *Japetella*, některé ryby). (převzato z: <http://www.annualreviews.org/>)

### 3.4.1 Obrana

Emise světla za účelem obrany je charakteristická téměř pro všechny bioluminiscenční organismy (Sonke et al., 1999).

Silný záblesk světla může být v jednom z případů vyvolán při těsném kontaktu s predátorem. Účelem je predátora vylekat, nebo ho donutit zaváhat. Toto chování je srovnatelné se způsobem, jakým páv využívá svá ocasní pera (Haddock et al., 2010).

Pravděpodobně nejvíce využívaným způsobem obrany je uvolnění chemických látek emitujících světlo do vody a vytvoření tak světelného mračna, nebo částic světla, které odvrátí pozornost predátora, nebo jej oslepí. Mračno také predátorovi ztěžuje orientaci a znemožňuje sledovat unikající kořist. Mechanismus obrany vylučováním sekretu je nejvíce využíván u klanonožců, krevet, žebernatků a trubýšů (Haddock et al., 2010). Vampýrovka hlubinná *Vampyroteuthis infernalis* (Chun, 1903) postrádá inkoustový vak a místo toho vydává luminiscenční mračno z hrotů svých chapadel. Hlubokomořská kreveta *Acanthephyra purpurea* (A. Milne-Edwards, 1881), která používá bioluminiscenci k oslepení a odvrácení predátora, kterému chrlí světlo z úst přímo do tváře [Obr. 7]. Krakatice *Octopoteuthis deletron* (Young, 1972) může za pomoci aktivace bioluminiscence různých částí svého těla odpoutat pozornost predátora (Widder, 2001) (Haddock et al., 2010).



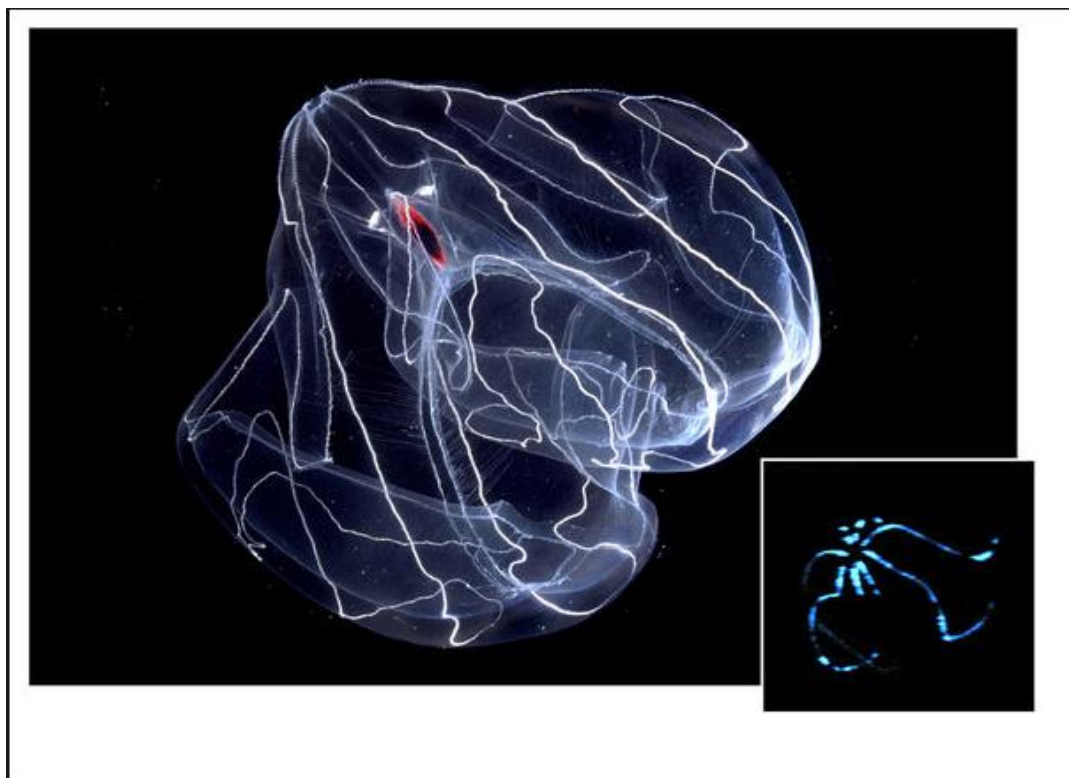
**Obr. 7** *Acanthephyra purpurea* odvracející útok predátora za pomoci vypuštění bioluminiscenčního mračna. (převzato z: <http://anthonylukephotography.blogspot.cz/>)

Další mechanismus obrany může být autotomie luminiscenčního přívěsku, který je poté schopen svítit několik hodin i po jeho pozření predátorem, který se díky jeho světlu stává snadnější kořistí (Haddock et al., 2010).

Jiní živočichové označují své predátory luminiscenčním slizem, který je tvoří viditelnými pro sekundární predátory. Jindy, v případě uchvácení predátorem, vydávají silné a mnohdy i velmi složité světelné signály, které lákají pozornost dalších (větších) predátorů, což jim umožňuje únik před vlastním predátorem (Widder, 2010).

V hlubokém moři, kde je nejvyšší výskyt organismů s průhledným tělem, může být luminescence použita také jako varovné znamení predátorům o jejich nepoživatelnosti, nebo potencionální nebezpečnosti (Widder, 2010).

Žebernatka hlubinná *Bathocyroe fosteri* (Madin and Harbison, 1978) obývá hlubiny kolem 200 – 1000 metrů pod hladinou oceánu. Světlo produkuje v řádcích, na hřebenech pláště. Ačkoli je celé její tělo průhledné, má červeně pigmentovaná střeva (červené a oranžové pigmenty pohlcují modré světlo), která slouží k zakrytí luminescence její kořisti [Obr. 8] (Widder, 2001).



**Obr. 8** Žebernatka hlubinná s červeně pigmentovaným střevem (větší obr.), projev bioluminiscence (menší obr.). (převzato z: <http://anthonylukephotography.blogspot.cz/>)

V jiných případech je bioluminiscence využita jako volání o pomoc. Jakmile je živočich chycen ve spárech dravce (Widder, 2001).



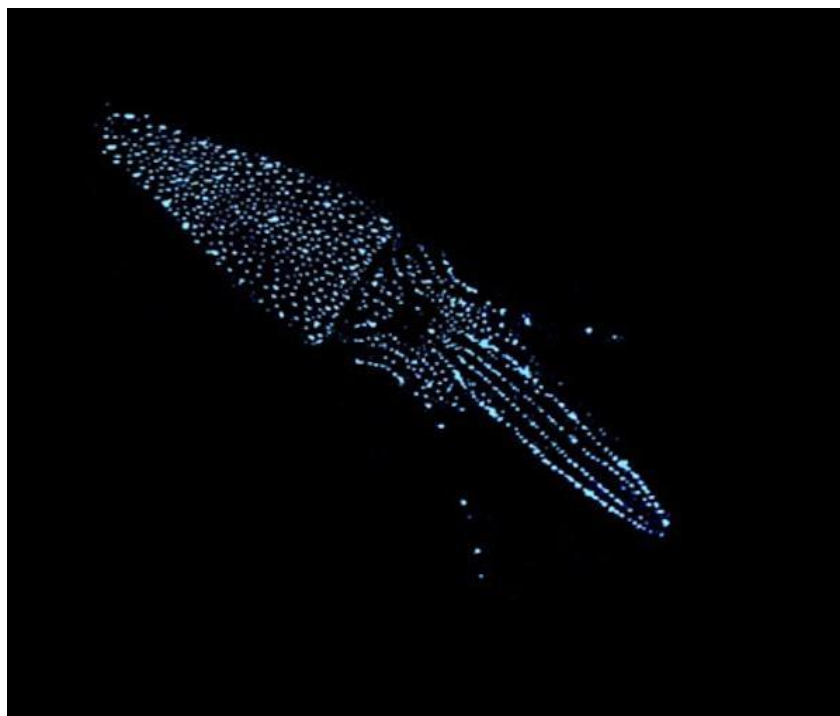
Experimenty prokázaly, že zastoupení bioluminiscenčních organismů v potravě dravců je v porovnání s ostatní potravou výrazně nižší (Sonke et al., 1999).

#### 3.4.1.1 Counterillumination

Jde o jeden ze způsobů bioluminiscenční obrany běžný u korýšů, hlavonožců a ryb (Haddock et al., 2010). Luminiscence využívaná tímto způsobem je buď autogenního původu, tedy živočich je schopen ji vytvářet sám, nebo vzniká symbiózou s bakteriemi - nejčastěji s *Vibrio fischeri* (Jones a kol., 2004).

Tento způsob maskování zahrnuje zapojení ventrálních fotoforů a slouží u mořských živočichů k zneviditelnění vlastního obrysu těla [Obr. 9] (Jones a kol., 2004). Silueta živočicha je nahrazena bioluminiscencí stejného zbarvení, intenzity světla i úhlového uspořádání, jaké má prostředí kolem živočicha při pohledu vzhůru k hladině. Je to účinný způsob obrany proti predátorům, kteří se při lovu orientují dle siluety, kterou vidí nad sebou u hladiny (Widder, 2010).

Sepiola kropenatá *Euprymna scolopes* (Berry, 1913) využívá kounteriluminaci k predaci, aby se maskovala před kořistí a mohla se nepozorovaně přiblížit (Jones a kol., 2004).



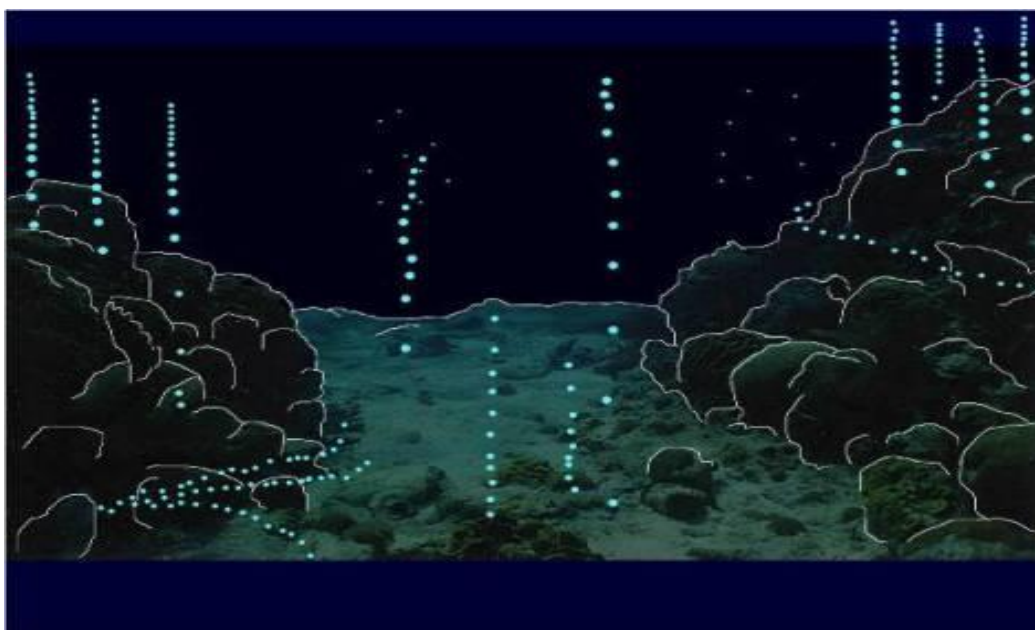
**Obr. 9** zapojení fotoforů při kounterluminaci krakatice hojné *Abralia veranyi* (převzato z: <http://ocean.si.edu>)



### 3.4.2 Upoutání partnera

Upoutání partnera je pravděpodobně až sekundární způsob využívání bioluminiscence. Aby bylo možné tohoto mechanismu využívat, musejí mít živočichové dobře vyvinutý zrak a také dostatečně vyvinuté sociální chování. Luminiscence je v tomto případě využívána k ritualizovaným, druhově specifickým námluvám, stejně tak jako je tomu u světlušek na souši. Samečci korýšů používají přesné schéma vyzařování světla k upoutání samic. Samičky mnohoštětinatců vydávají jediný dlouhý, nebo přerušovaný záblesk světla jako odpověď na upoutání silně blikajícím samečkem (Dean, Gaines, 2007).

U lasturnatek vytváří každý poddruh svou vlastní „stopu“ v podobě světelných bodů, které za sebou zanechávají plovoucí samečci [Obr. 9]. Mezidruhové rozdíly, ale i rozdíly luminiscence během zanechávání jedné světelné stopy spočívají v době trvání jednotlivých pulzací, které se pohybují od několika milisekund až do několika sekund. Dalšími rozdílnostmi v projevu bioluminiscence je směr světelné stopy, která může být vertikální (směrem nahoru, nebo dolů), laterální či diagonální. Délka stopy může být dlouhá od několika centimetrů až po několik metrů, během které se objeví pouze několik pulzů (2 – 3), nebo i několik desítek. Přestože luminiscence jsou schopna všechna životní stádia těchto živočichů, jejího využívání k upoutání partnera jsou schopni pouze samečci. V důsledku toho nedochází mezi samečkem a samicou k žádné vzájemné komunikaci. Samička pouze tiše následuje samečkovy projevy námluv vlivem jejích smyslových podnětů (Rivers and Morin, 2012).



**Obr. 10** Ilustrace zobrazující jak mohou vypadat světelné stopy, které zanechává sameček lasturnatek rodu *Cypridina*, při námluvách. (převzato z: <http://bioweb.uwlax.edu/>)

### 3.4.3 Získávání potravy

Některé bakterie vytvořili symbiózu s určitými druhy mořských ryb, kterým propůjčují svou luminiscenci k upoutání potencionální kořisti či partnera, nebo napomáhají k vyhnutí se predátorovi, na oplátku je jim za to poskytováno vhodné životní prostředí na povrchu těla hostitele. U volně žijících bakterií není význam bioluminiscence zcela objasněn. Nejpravděpodobnější hypotéza uvádí, že bakterie žijící ve výkalech bentických organismů využívají luminiscenci jako atraktant, který usnadňuje jejich pozření spolu s výkaly (Widder, 2010).

Zooplankton je přitahován luminiscenčními bakteriemi, které spolknou, ale nemůže je strávit, takže bakterie zůstávají v jejich trávicím traktu a produkují světlo, které přitahuje další predátory, kteří požírají zooplankton. Bakterie se tímto způsobem snadněji rozšiřují na místa vhodnější k životu (Belkin et al., 2012).

*Vibrio harveyi* se ve velkém počtu vyskytuje na těle korýšů, kteří jsou díky jejich luminiscenci viditelnější a jsou snadnější kořisti pro další mořské živočichy, například ryby. Bakterie se tak snadněji dostane do střev ryb, ve kterých vytváří kolonie a snadno v něm přežívá. Tento způsob života je pro *V. harveyi* výhodnější, než přežívání na volném moři (Rychlík a kol., 2000).

Velmi známým příkladem bioluminiscence obrněnek jsou jasné záblesky, které se objevují kolem různých objektů a živočichů v pobřežních vodách [Obr. 11]. Světelné záblesky nastávají po stimulaci obrněnek přímým kontaktem a lze je pozorovat například i na povrchu řas. Z jejich strany jde o poplašný signál nouze, avšak ostatní živočichové, například lachtani lovcí v noci, mohou díky jejich luminiscenci snadněji lokalizovat kořist (Morin, 1983).



**Obr. 11** Bioluminiscence obrněnek při pobřeží ostrova Vaadhoo na Maledivách (převzato z: <http://news.nationalgeographic.com/>)

U chobotnic, zejména u druhu *Chiroteuthis spoeli* (Salcedo-Vargas, 1996), je bioluminiscence vhodná k přilákání kořisti. Kořist v temných vodách následuje atraktivní světelný útvar visící na koncích dlouhých chapadel a vedle kterého je predátor téměř neviditelný. Po přiblížení se na dostatečnou vzdálenost je kořist uchválena lepivými chapadly (Johnsen et al., 1999).

Trubýši mimo mimiker k upoutání kořisti také používají dlouhá chapadla s bioluminiscenčními nástrahami, kterými švihají nahoru a dolů podél svých žahavých buněk. Některé druhy rodu *Erenna* se živí převážně rybami. Proto mají bioluminiscenční návnady obklopené červeným fluorescenčním povlakem, který je atraktivní pouze pro ryby vnímající červené světlo (Haddock et al., 2010).

V případě Krakatice sargasové *Taningia danae* (Joubin, 1931) je bioluminiscence využívána při útoku a slouží k omráčení, nebo zmatení kořisti. Ve chvíli útoku vydává z rozepjatých chapadel silné záblesky po dobu 1 – 2 sekund (Haddock et al., 2010).

#### **3.4.4 Vnitrodruhová komunikace**

Bioluminiscence je využívána spíše jako vnitrodruhový komunikační kanál, než k mezidruhové komunikaci. Zakládá se na druhově specifické citlivosti k neobvykle dlouhým nebo krátkým vlnovým délkám světla. Vzhledem k přítomnosti pohlavního dimorfismu a druhově rozdílné morfologii fotoforů, je předpokladem využití bioluminiscence k rozeznávání vlastního druhu (Haddock et al., 2010).

## **3.5 Význam bioluminiscence pro člověka**

### **3.5.1 Detekce protein – proteinových interakcí**

Od objevení zeleného fluorescenčního proteinu se fluorescenční proteiny staly nepostradatelnými při zkoumání molekulárních buněčných dějů, buněčné fyziologie, buněčných interakcí a signalizací v živých buňkách a malých organismech. Za jejich pomocí lze studovat různé typy vazeb. Například protein – proteinové interakce (antigen-protilátka, ligand-receptor), přes DNA nebo RNA hybridizaci až po vazby proteinu s DNA nebo RNA. Výhodami fluorescenčních proteinů je jejich snadná manipulovatelnost metodami genového inženýrství, snadná a stabilní exprese v buňkách a organismech. Metody umožňují prokázat, nebo upřesnit již známé proteinové interakce a odhalit jejich inhibitory, zachytit konformační změny proteinů, objasnit signální kaskády v živé buňce s minimálním ovlivněním jejího buněčného prostředí. Jsou založeny na zviditelnění proteinových interakcí pomocí excitace fluorescenčních proteinů světlem, nebo enzymaticky. Cílem je lokalizace proteinů v buňce nebo jejich organelách, kvantifikace intenzity fluorescenčního, nebo luminiscenčního signálu a odhalení pevnosti vazby mezi interakčními partnery (Matoulková a Vojtěšek, 2014).

### **3.5.2 Biologické testy**

Vložením genu luxCDABE do neluminiscenčních bakterií je mohou vědci přeměnit v luminiscenční a využívat je k měření a sledování růstu populací bakterií a jejich životních podmínek na různých stanovištích (Lil and Meighen, n. d.).

### **3.5.3 Bakteriální bioluminiscenční test toxicity**

Testy, které jsou v současnosti využívány a jsou předepsané normami, mají několik nevýhod. Hlavním nedostatkem je dlouhá doba potřebná k získání výsledků analýz a malá statistická spolehlivost vzhledem k nízkému počtu testovaných jedinců. Biotesty založené na mortalitě jedinců také neumožňují kvantifikovat slabé toxické účinky a nelze zjistit eventuální stimulační efekt látek na živé organismy. Vedle těchto důvodů bývají také často konfrontovány s etickými principy. Některé tyto nedostatky eliminuje bakteriální bioluminiscenční test toxicity (Micotox). Microtox test ve své podstatě využívá pokles bioluminiscence mořských bakterií *Photobacterium phosphoreum* vlivem xenobiotik,

cizorodých umělých sloučenin, přítomných v hodnoceném vzorku (Kafka, Punčochářová, 1999).

#### **3.5.4 Biologické světlo**

Tvorba biologického světla za použití luminiscenčních bakterií je jedním ze zajímavých nápadů představených v projektu „mikrobiální domov“. V tomto systému jsou všechny odpady jako je kal, kuchyňský odpad, smetí a odpadní vody filtrovány a zpracovány metanovými digestory. Vzniklý metan a homogenizovaný materiál by měl sloužit ke krmení luminiscenčních bakterií (Heimbuch, 2010).

#### **3.5.5 Rybářství**

Luminiscence se využívá jako návnada v komerčním rybolovu způsobem „long-line“ v hlubokých vodách v okolí Madeiry. Tkáň kůže a pláště luminiscenčních organismů, obvykle olihni, se krájí na plátky tak, aby došlo k obnažení aktivních fotoforů, které se kladou do vody. Převládajícím druhem takto ulovených ryb je tkaničnice tmavá (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839) (Herring a kol., 2009).

Dalším potencionálně důležitým příkladem, ale nepřímo využívaným v rybaření, je detekce a vyhodnocení velikosti hejna ryb, korýšů, nebo kalamár za pomoci luminiscence obrněnek a ostatních planktonních druhů. K vyhodnocení se využívají pořízené letecké snímky (Herring a kol., 2009).

## 4 Závěr

Práce byla zaměřena na rozdělení typů a principů bioluminiscence u mořských bezobratlých živočichů s ohledem na mezidruhové rozdíly ve způsobu jejího využívání. V první části byly připomenuty významné osobnosti, které prováděli důležité výzkumy vedoucí k objasnění mechanismu bioluminiscence. V dalším bodě byly stručně objasněny selekční tlaky, které hráli hlavní roli při utváření schopnosti produkce světla. Je překvapivé, že vznik schopnosti bioluminiscence se objevuje sporadicky mezi několika na sobě nezávislými taxony.

V podstatě je bioluminiscence schopností, která umožňuje živočichům projevat svoje postoje a propůjčuje jim oproti neluminiscenčním organismům velké výhody v mnoha směrech. U organismů na nižším vývojovém stupni (bakterie, obrněnky, mřížovci) je způsob využívání bioluminiscence omezen jejich primitivnější morfologií a jednodušší životní strategií. Ve většině těchto případů je produkce biologického světla využívána hlavně jako obranný mechanismus, který slouží především celé populaci vyskytující se na jednom místě a nejde tedy o obranu využívanou samostatnými jedinci.

Opačným případem jsou živočichové na vyšší vývojové úrovni, kteří schopnost bioluminiscence využívají ve většině životních situací, například k obraně, lovu, atrakci sexuálního partnera a někdy i k vnitrodruhové komunikaci. Pro tyto účely se u nich vyvinuli složité bioluminiscenční orgány, které jsou obzvláště známé u hlavonožců.

## 5 Seznam literatury

Affi, M., Durand, M., Gezekel, H., Charrier, T., Thouand, G. 2010. Bacterial Bioluminescence Biosensor Characterisation for On-line Monitoring of Heavy Metals Pollutions in Waste Water Treatment Plant Effluents. University of Nantes. France. 29p. ISBN: 9789537619992.

Belkin, S., Genin, A., Lonescu, M., Zarubin, M. 2012. Bacterial bioluminescence as a lure from marine zooplankton and fish. PNAS. 109 (3). 853 – 857.

Broad, W. J. Cousin of the jellyfish spurs fresh theories on Seeing red [online]. New York Times. July 12, 2005 [cit. 2014-04-20]. Dostupné z [http://www.nytimes.com/2005/07/12/science/12red.html?\\_r=1&](http://www.nytimes.com/2005/07/12/science/12red.html?_r=1&)

Buskey E. J. 1994. Growth and bioluminescence *Noticula scintillans* on varying algal diets. Journal of plankton research. 17 (1). 29-40.

Campbell, A. K., Herring, P. J., Maddock, L., Whitfield, M. 2009. Light and Life in the Sea. Cambridge University Press. 368 p. ISBN: 9780521105484

DeLuca, M. A., McElroy, W. D. 1983. Firefly and bacterial luminescence: basic science and applications. Journal of Applied Biochemistry. 5 (3). 197 – 209.

Denny, M., W., Gaines, S., D. 2007. Encyclopedia of Tidepools and Rocky Shores. University of California Press. California. 735 s. ISBN: 9780520251182

Denton, E. J., Herring, P. J., Widder, E. A., Latz M. F., Case, J. F. 1985. The Roles of Filters in the Photophores of Oceanic Animals and their Relation to Vision in the Oceanic Enviroment. The royal society publishing. 225 (1238). 63 – 97.

DeSa, R., Hastings, J W. 1968. The Characterization of Scintillons, Bioluminescent particles from the marine dinoflagellate, *Donyaulax polyedra*. The Journal of General Physiology. 51 (1). 105 - 122.



Dubuisson, M., Marchand, C., Rees, J. F. 2004. Firefly luciferin as antioxidant and light emitter: the evolution of insect bioluminescence. *The journal of biological and chemical luminescence*. 19 (6). 339 – 344.

Dunlap, P. V., in *Encyclopedia of Microbiology*, Schaechter, M., 2009. Elsevier. Oxford. 1200 s. ISBN: 9780123739445.

Haddock, S. *Bioluminescence 2009: Living light on the deep-sea Floor* [online]. National oceanic and atmospheric administration July 20-30, 2009. [cit. 2014-06-05] Dostupné z <<http://oceanexplorer.noaa.gov/explorations/09bioluminescence/background/bioluminescence/bioluminescence.html>>

Haddock S. H. D., Case, J. F. 1999. Bioluminescence spectra of shallow and deep-sea gelatinous zooplankton: ctenophores, medusae and siphonophores. *Marine biology*. 133 (3). 571 – 582.

Haddock, S. H. D., Dunn, C. W., Pugh P. R., Schnitzler, Ch. E. 2005. Bioluminescent and Red-Fluorescent Lures in a Deep-Sea Siphonophore. *Science*. 309 (5732). 263.

Haddock, S. H. D., Moline, M. A., Case, J. F. 2010a. Bioluminescence in the sea. *The Annual Review of marine science*. (2). 443 – 493.

Harvey, E. N., 1957. *A History of luminescence From the earliest times until 1900*. The american philosophical society. Philadelphia.

Dostupné z:

[https://archive.org/stream/historyoflumines00harv/historyoflumines00harv\\_djvu.txt](https://archive.org/stream/historyoflumines00harv/historyoflumines00harv_djvu.txt)

Harvey, E. N. *The nature of animal light* [online]. *Monographs on experimental biology* November 26, 2010. [cit. 2013-12-15]. Dostupné z:

<[http://www.gutenberg.org/files/34450/34450-h/34450-h.htm#Page\\_85](http://www.gutenberg.org/files/34450/34450-h/34450-h.htm#Page_85)>

Hastings, J. W. 1983. Biological diversity, Chemical Mechanisms, and the Evolutionary Origins of Bioluminescent Systems. *Journal of Molecular Evolution*. 19 (5). 309 – 321.

Hastings, J. W., Nealson, K. H. 2006. Quorum sensing on a global scale: Massive numbers of Bioluminescent bacteria make milky seas. *Applied and Environmental Microbiology*. 72 (4). 2295 – 2297.

Heimbuch, J. Philips Bio-light Design Uses Bacteria to Light Up Your living room [online]. Treehugger November 28, 2011. [cit. 2014-09-12]. Dostupné z < <http://www.treehugger.com/clean-technology/philips-biolight-design-uses-bacteria-to-light-up-your-livingroom.html> >

Herring, P. J., Widder, E. A., Haddock, S. H. D. 1992. Correlation of bioluminescence emissions with ventral photophores in the mesopelagic squid *Abralia veranyi* (Cephalopoda: Enoploteuthidae). *Marine Biology*. 112 (2). 293 – 298.

Herring, P. J. In Summerhayes, C. P., Thorpe, S. A. 1996. *Oceanography*. Manson publishing. London. 348 p. ISBN: 1874545383.

Jánský, B. 1992. *Geografie moří a oceánů*. Karolinum. Praha. 138s.

Johnsen, S., Balsler, E. J., Fisher, E. C., Widder, E. A. 1999. Bioluminescence in the Deep-Sea Cirrate Octopod *Stauroteuthis syrtensis* Verrill (Mollusca: Cephalopoda). *The biological bulletin*. 197 (1). 26 – 39.

Jones, B. W., Nischiguchi, M. K. 2004. Counterillumination in the Hawaiian bobtail squid, *Euprymna scolopes* Berry (Mollusca: Cephalopoda). *Marine biology*. 144 (6). 1151 – 1155.

Kafka, Z., Punčochářová, J. 1999. Biotesty a jejich aplikace v analytice životního prostředí. *Chemické listy*. 93 (1). 604 – 606.

Krinke O., Novotná Z., Valentová O., Martinec J. 2005. Metody měření koncentrace Ca<sup>2+</sup> iontů použitelné při studiu buněčné signalizace. *Chemické Listy*. 99 (1). 231 – 235.

Lin, L., Meighen, E. 2001. Modeling of the bacterial luciferase – flavin mononucleotide complex combining flexible docking with structure – activity data. *Protein Science*. 10 (1). 1563 – 1571.

Matoulková, E., Vojtěšek, B. Detekce protein – proteinových interakcí metodami FRET a BRET [online]. Regionální centrum aplikované molekulární onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno 01-20 2014. [cit. 2015-03-10]. Dostupné z < <http://www.linkos.cz/files/klinicka-onkologie/186/4490.pdf>>

Morin, J. G. 1983. Coastal bioluminescence: Patterns and functions. *Bulletin of marine science*. 33 (4). 787 – 817.

Pugh, P. R. 2001. A review of the genus *Erenna* Bedot, 1904 (Siphonophora, Physonectae). *Bulletin natural history*. 67 (2). 169 - 182.

Rees, J. F., Wergifosse, B., Noiset, O., Dubuisson, M., Janssens, B., Thompson, E. M. 1998. The origins of marine bioluminescence: Turning oxygen defence mechanisms into deep – sea communication tools. *The Journal of experimental Biology*. 201 (1). 1211 – 1221.

Rivers, T. J., Morin, J. G. 2012. The relative cost of using luminescence for sex and defense: light budgets in cypridinid ostracods. *The Journal of experimental biology*. 215 (4). 2860 – 2868.

Rychlík, I., Ševčík, M., Volf, J. 2000. Bakteriální komunikace a možnosti využití v prevenci a terapii bakteriálních infekcí. *Výzkumný ústav veterinární*. 45 (6). 181 – 188.

Seliger, H. H., Carpenter, J. H., Loftus, M., McElroy, W. D. 1970. Mechanisms for the accumulation of high concentrations of dinoflagellates in a bioluminescent bay. *Limnology and oceanography*. 15 (2). 234 245.

Seliger, H. H. In: *Bioluminescence in the ocean: Origins of biological, chemical, and Ecological diversity*. Widder, E. A. 2010. *Science*. 328 (5979). 704 – 708.

Shimomura, O. 2006. *Bioluminescence: Chemical principles and Methods*. World Scientific. Singapore. 468 p. ISBN: 9814366080.

Shimomura, O. 2005. The discovery of aequorin and green fluorescent protein. *Journal of Microscopy*. 217 (1). 3-15.

Widder, E., A. 2010. Bioluminescence in the ocean: Origins of biological, chemical, and ecological diversity. *Science*. Vol. 328 (5979). 704 – 708.

Widder, E. A. 1999. in *Adaptive Mechanisms in the Ecology of vision*, Archer, S. N., Gjamgoz, M. B. A., Loew, E., Partridge, J. C., Vallerga S. 1999. Springer Science & Business Media. 668 p. ISBN: 9789401706193.

Widder, E. A. 2001. Marine bioluminescence. *Bioscience explained*. 1 (1). 1 – 9.

Young, R. E., Arnold, J. M. 1982. The functional morphology of a ventral photophore from the mesopelagic squid, *Abralia trigonura*. *Malacologia*. 23 (1). 135 – 183.