

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Katedra botaniky

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Alena Füllsacková**

*Phaeocystis* – klíčový producent dimetylsulfidpropionátu (DMSP); ekologická a fyziologická  
role DMSP

*Phaeocystis* – a key organism in dimethylsulfoniopropionate production; ecological and  
physiological functions of DMSP

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Yvonne Němcová, Ph.D.

Praha, 2016

### *Poděkování*

Ráda bych poděkovala doc. RNDr. Yvonne Němcové, Ph.D., za její trpělivost, vstřícnost a odborné vedení při vypracování bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala přátelům a rodině za podporu a motivaci.

### **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, 12. 5. 2016

Podpis

## Abstrakt

Dimethylsulfidpropionát (DMSP) je významná sloučenina s různými ekologickými a fyziologickými funkcemi. DMSP je prekurzorem pro dimethylsulfid (DMS), který vzniká při rozkladu DMSP DMSP-lyázou. Producenti DMSP jsou vodní i terestrické organismy od cévnatých rostlin až po fytoplankton. V organismech má DMSP funkci jako osmolit, kryoprotektant, antioxidant a jako obrana před predátory. DMSP a DMS se účastní cyklu síry a uhlíku, podílí se na vzniku kondenzačních jader, zvyšování mračného albeda a hypoteticky i na ovlivňování klimatu. DMSP je produkován především fytoplanktonem, jelikož tato skupina je velmi obsáhlá a bylo provedeno velké množství výzkumů v této oblasti, soustředím se na haptofytní rod *Phaeocystis*. *Phaeocystis* je globálně rozšířený rod se složitým životním cyklem, je popsáno a taxonomicky uznáváno 10 druhů. Zástupci rodu *Phaeocystis* tvoří dvě rozdílné životní formy – volně žijícího bičíkovce a slizové kolonie. Z 10 popsanych druhů pouze tři tvoří slizové kolonie (*P. pouchetii*, *P. antarctica*, *P. globosa*). V intercelulárním prostoru této řasy dochází k produkci DMSP. DMSP je uvolňováno do prostředí převážně ve formě DMS při růstu, predaci nebo po odumření buněk. Tato produkce je ovlivňována různými faktory, jako UV zářením, virovou infekcí buněk nebo nedostatkem železa v prostředí.

**Klíčová slova:** cyklus síry, dimethylsulfidpropionát, DMSP, dimethylsulfid, DMS, fytoplankton, osmoregulace, *Phaeocystis*

## **Abstract**

Dimethylsulfoniopropionate (DMSP) is an organic sulfur compound with an important ecological and physiological functions. DMSP is a major precursor for dimethylsulfid (DMS). DMSP is produced by variety of halophytic plants and phytoplankton for the purposes of osmotic regulation, antioxidation and protection from predators. It is especially widespread among the marine phytoplankton and it is ubiquitous in the euphotic zone. DMS and DMSP are also involved in flux of carbon and sulfur. Marine emissions of DMS have a particularly important role as precursors of atmospheric sulfur-containing aerosols that influence the Earth's climate system through direct backscatter of solar radiation and through cloud formation. DMSP is produced mainly by phytoplankton, because this group of organism is very large, I'll focus on *Phaeocystis*. *Phaeocystis* is a genus of marine phytoplankton with a worldwide distribution. It has a polymorphic life cycle alternating free-living cells and colonies but develops massive blooms under the colony form. Among the 10 species, only 3 (*P. pouchetii*, *P. antarctica*, *P. globosa*) have been reported as blooming species. DMSP is produced intracellularly and it is released as DMS. DMS concentration is high during the growth of the cells, predation or senescence. The production of DMSP is influenced by UV radiation, virus infection and it is also iron limited.

**Key words:** sulfur cycling, dimethylsulfoniopropionate, DMSP, dimethylsulfide, DMS, phytoplankton, osmoregulation, *Phaeocystis*

## Seznam zkratek

3-MPA – 3-mercaptopropionát

$\beta$ -HP –  $\beta$ -hydroxypropionát

CCN – kondenzační jádra mraků

D-MTHB – 2-hydroxybutyrát

DMS – dimethylsulfid

DMSHB – 4-dimethylsulfonio-2-hydroxybutyrát

DMSO – dimethylsulfoxid

DMSP – dimethylsulfidpropionát

DMSP-ald – 3-dimethylsulfidpropinaldehyd

DMSPd – dimethylsulfidpropionát rozpuštěný ve vodě

DMSPp – intracelulární dimethylsulfidpropionát

GB – glycin betain

L-Met – methionil

L-SSM – S-methylmethionil

LM – light microscopy

MeSH – methylthiol

MMPA – 3-methylpropionát

MSA- methylsulfonát

MSNA – methansírová kyselina

MTOB – 4-methylthio-2-oxybutyrát

NaCl – chlorid sodný

nss-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> – síranové aerosoly

OH – hydroxylový radikál

ROS – reaktivní formy kyslíku

SO<sub>2</sub> – oxid siřičitý

SEM – skenovací elektronová mikroskopie

TEM – transmisní elektronová mikroskopie

## Obsah

1 Úvod.....	1
2 DMSP.....	2
2.1 Zdroje DMSP.....	4
2.2 Dimethylsulfid.....	6
2.3 Regulace klimatu.....	10
3 <i>Phaeocystis</i> .....	12
3.1 Produkce DMSP druhy rodu <i>Phaeocystis</i> .....	17
3.1.1 UV záření.....	17
3.1.2 Vliv nedostatku železa na produkci DMSP.....	18
3.1.3 Virová infekce.....	19
4 Závěr.....	20
Bibliografie.....	21

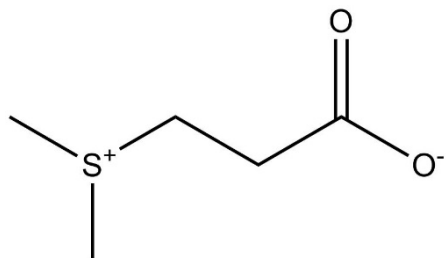
# 1 Úvod

Dimethylsulfidpropionát (DMSP) je organická sloučenina, produkovaná převážně halofytními rostlinami a mořským fytoplanktonem. Tato sloučenina je produkována především jako osmolit a antioxidant, ale má i další důležité funkce, často je spojována se stresem buněk. Všechny fyziologické funkce DMSP jsou stále předmětem výzkumu (Kiene *et al.*, 2000). DMSP je prekurzor pro nestálou organickou sloučeninu dimethylsulfid (DMS). DMS je uvolňován z buněk pomocí DMSP-lyázy. DMS může ventilovat z oceánu do atmosféry, nebo se zapojit do potravního řetězce jako významný zdroj uhlíku (C) a síry (S). Při ventilaci DMS do atmosféry dochází k oxidaci a ke vzniku kondenzačních jader, které zvyšují oblačnost nad oceánem, během tohoto procesu dochází také k přesunu sirných sloučenin z oceánu do atmosféry, tento přesun zajišťuje až 50 % biogenní síry v jejím koloběhu (Charlson *et al.*, 1987). DMSP a DMS jsou tedy uvažovány i jako sloučeniny se schopností ovlivňovat klima a sloučeniny spojené se signalizací mezi organismy (Seymour *et al.*, 2010). DMSP syntéza neprobíhá v každém organismu stejně, protože biosyntéza vznikla v evoluci opakovaně. Produkce DMSP ve fytoplanktonu se objevuje u více skupin např. u haptofyt (*Emiliana huxleyi*, *Phaeocystis*), rozsivky a zlativky (Yoch, 2002). *Phaeocystis* představuje rod jednobuněčných, globálně rozšířených, haptofytních řas. Některé druhy rodu *Phaeocystis* jsou schopny tvořit slizové kolonie, které mají velký vliv na ekosystém. *Phaeocystis* je také významným producentem DMSP, které je uvolňováno do okolního prostředí především v době tvorby vegetačního zákalu, ale i v době senescence nebo predace buněk. Produkce DMSP v buňkách je ovlivněna UV zářením, virovou nákazou, ale i např. nedostatkem železa (Hefu & Kirst, 1997; Kinsey *et al.*, 2015; Malin *et al.*, 1998).

Cílem této práce je literární rešerše odborných zdrojů na téma *Phaeocystis* – klíčový producent dimethylsulfidpropionátu (DMSP); ekologická a fyziologická role DMSP. Shrnuji dosud známé fyziologické a ekologické funkce DMSP. Dále popisuji rod *Phaeocystis*, jeho životní cyklus a výskyt. Poslední část práce věnuji faktorům ovlivňujícím produkci DMSP u druhů z rodu *Phaeocystis*. Na rod *Phaeocystis* se zaměřuji z toho důvodu, že je významným producentem DMSP, ale není tak prozkoumaným jako např. *Emiliana huxleyi*.

## 2 DMSP

DMSP neboli dimethylsulfidpropionát je organická sloučenina se vzorcem  $(\text{CH}_3)_2\text{S}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$  (obr. 1). Tato molekula je takzvaný zwitterion, obsahuje pozitivní i



Obr. 1 – molekula DMSP

negativní náboj, a tedy její konečný náboj je neutrální.

Tento náboj se mění s měnícím se pH (Groene, 1995).

DMSP je produkován mořským fytoplanktonem

(*Emiliana huxleyi*, *Phaeocystis*), chaluhami a některými

cévnatými rostlinami převážně halofytními (*Spartina*

*alterniflora*). DMSP má více funkcí, ale nejčastěji bývá

jeho produkce spojována se stresem organismů. DMSP je

produkován jako osmolit (Dickson *et al.*, 1980), antioxidant (Husband *et al.*, 2007),

kryoprotektant (Malin *et al.*, 1996) a jako látka chránící před predátory (Wolfe *et al.*, 1997).

DMSP je důležitou sloučeninou cyklu síry a uhlíku (Andreae, 1985). Obrázek 2 shrnuje možné

způsoby štěpení a přeměny DMSP.

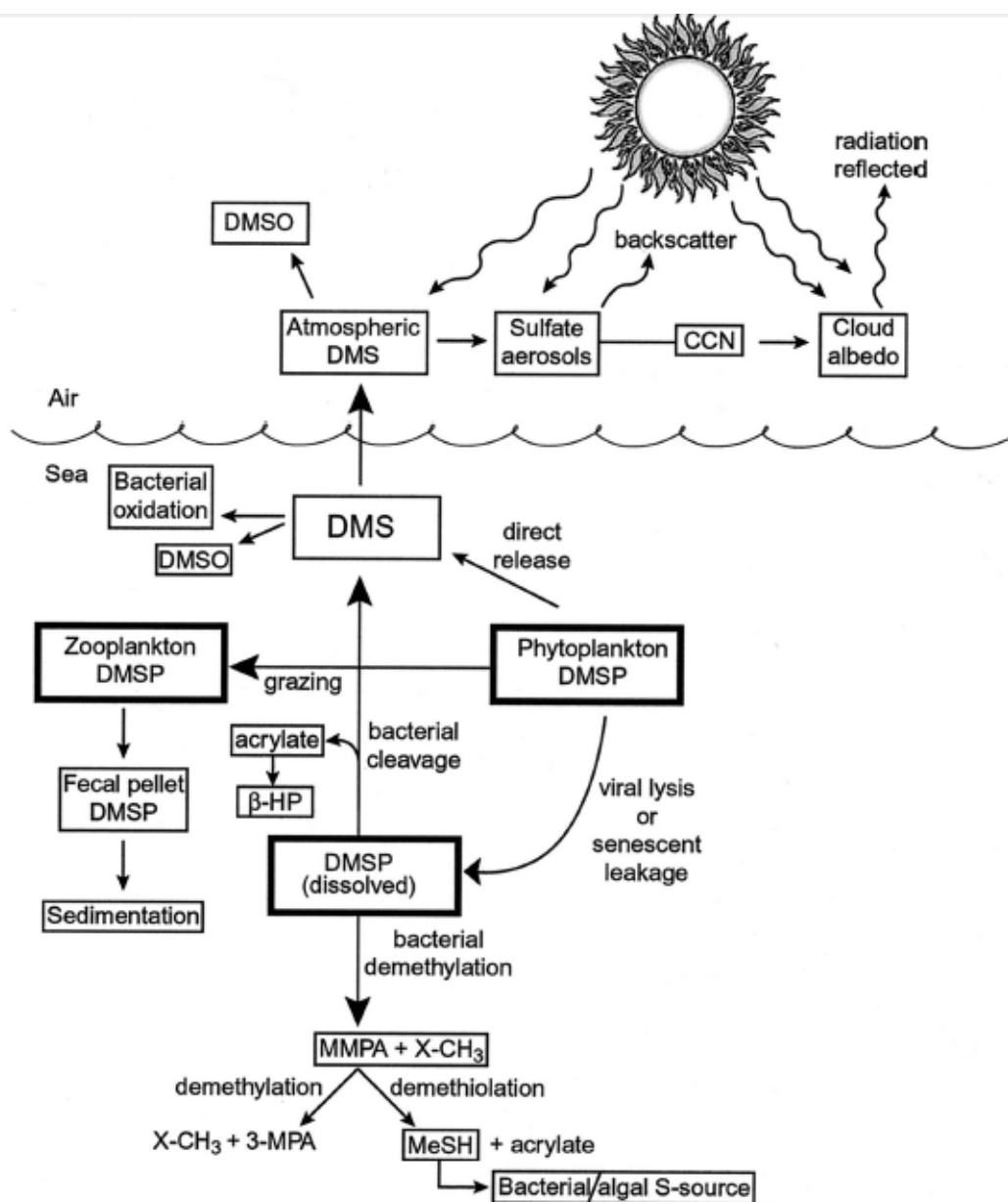
DMSPd (angl. dissolved – DMSP rozpuštěný ve vodě) je rozkládán více způsoby. Může být rozložen DMSP-lyázou na dimethylsulfid (DMS) nebo může být demetylován za vzniku 3-methylpropionátu (MMPA), který je buď dále demetylován na 3-mercaptopropionát (3-MPA) nebo demetylován za vzniku methylthiolu (methylmerkaptan, MeSH) (Kiene & Taylor, 1988). DMSP je prekurzorem pro dimethylsulfid (DMS). Tato nestálá sloučenina zajišťuje 50 % objemu přírodního zdroje síry v atmosféře (90 % mořského cyklu síry) (Hansen *et al.*, 1995). DMSP byl poprvé spojován s cyklem síry (S) již v 70. letech minulého století. Dnes ho považujeme za jeden z hlavních zdrojů přírodní síry. DMS se uvolňuje z vrchních vrstev oceánu do atmosféry, kde dává vzniknout kondenzačním jádrům mraků (Groene, 1995). Ve fytoplanktonních organismech zajišťuje DMSP 1–16 % intracelulárního uhlíku (Matrai & Keller, 1994), v extrémních případech i 20 % a to u některých druhů rodu *Phaeocystis*. U bakterií, které DMSP vstřebávají z okolního prostředí, je DMSP zdrojem přibližně 3 % uhlíku a zdrojem až 100 % síry (Kiene & Linn, 2000). Až 30 % síry z DMSPd (dissolved-DMSP; rozpuštěný ve vodě) je vstřebáváno bakteriemi a použito pro tvorbu proteinů (Kiene *et al.*, 2000; Yoch *et al.*, 1997).

Dimethylsulfidpropionát je organismy produkován a vstřebáván jako osmolit. DMSP je zwitterionický, snadno rozpustitelný (i při vysokých koncentracích) a neprochází



přes plazmatickou membránu. Strukturou je podobný glycin betainu, a tak je jeho využití při velkých při velkých intracelulárních koncentracích jako osmolitu nasnadě (Groene, 1995). Organismy žijící v mořích jsou vystaveny vysoké koncentraci chloridu sodného (NaCl), které se musí bránit. Jelikož NaCl je často škodlivý buněčným proteinům a membránám mořských organismů, tak je v buňkách nahrazován prolinem, glycin betainem (GB) nebo DMSP (Dickson & Kirst, 1987). DMSP a štěpný produkt DMS dimethylsulfoxid (DMSO) jsou považovány za kryoprotektanty. DMSP stabilizuje při nízkých teplotách proteiny jako laktát dehydrogenázu, proto je účinným kryoprotektantem. (Lyon *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2001).

Řasy jako autotrofní organismy využívají fotosyntézy. Jako vedlejší produkt této reakce vznikají hydroxylové radikály OH. Bylo zjištěno, že dimethylsulfidpropionát rychle reaguje na zvýšené množství těchto radikálů a rozkládá je. Akrylát, DMS a jeho štěpné produkty z oxidace dimethylsulfoxid (DMSO), methansírová kyselina (MSNA) reagují ještě rychleji. Zvýšená koncentrace DMSP v buňkách rozsivky *Thalassiosira pseudonana* vystavených oxidativnímu stresu potvrdila funkci DMSP jako antioxidantu (Sunda *et al.*, 2002). DMSP poskytuje také ochranu před predátory. Při napadení řasy produkující DMSP (*Emiliania huxleyi*) predátorem (obrněnkou *Oxyrrhis marina*) docházelo v napadených buňkách působení DMSP-lyázy na DMSP a k uvolňování štěpného produktu akrylátu, který má antimikrobiální účinky. V případě, že měl predátor na výběr z více kmenů, vybíral si vždy ty, které měly menší enzymatickou aktivitu DMSP-lyázy a tedy menší produkci akrylátu (Wolfe *et al.*, 1997).

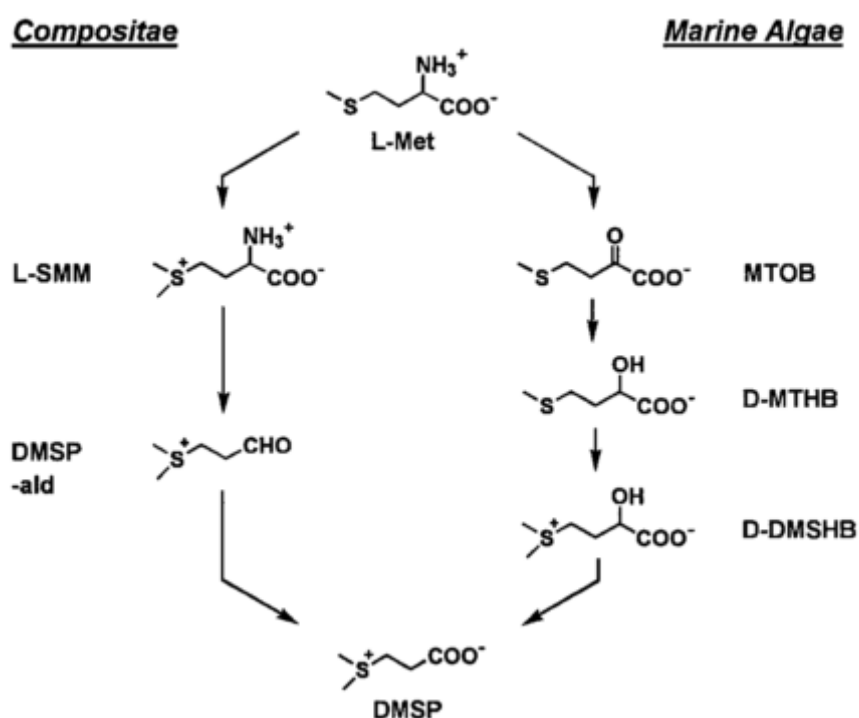


Obr. 2 – Schéma znázorňující cyklus DMSP a DMS ve vodním sloupci a atmosféře. DMSO – dimethylsulfoxid, CCN – kondenzační jádra mraků, MMPA- 3-methiolpropionát, β-HP – β-hydroxypropionát, 3-MPA – 3-mercaptopropionát, MeSH – methylthiol, X-CH<sub>3</sub> – nedefinovaná sloučenina s metanovou skupinou (podle Yoch, 2002).

## 2.1 Zdroje DMSP

DMSP je produkován mořským fytoplanktonem, chaluhami a některými cévnatými rostlinami, převážně halofytními. V mořském fytoplanktonu lze jmenovat jako významné producenty zástupce skupiny haptofyta *Emiliania huxleyi* nebo *Phaeocystis*, dalšími producenty jsou některé obrněnky (Iverson *et al.*, 1989). DMSP produkuje zelená řasa *Ulva lactuca* (Dickson *et al.*, 1980), cévnatá rostlina *Spartina alterniflora* (lipnicotvaré, Gramineae) nebo rostliny

z čeledi Asteraceae (složnokvěté) (Husband, 2007). Syntéza této organické molekuly neprobíhá u všech výše vyjmenovaných organismů stejně. U rostlin z čeledi Asteraceae probíhá syntéza následovně: methionil (L-Met), S-methylmethionin (L-SMM), 3-dimethylsulfidpropionaldehyd (DMSP-ald), dimethylsulfidpropionát (DMSP). Syntéza u mořských řas začíná také u methionilu (L-Met), ale dále pokračuje přes 4-methylthio-2-oxobutyrat (MTOB), 4-methylthio-2-hydroxybutyrat (D-MTHB), 4-dimethylsulfonio-2-hydroxybutyrat (D-DMSHB), dimethylsulfidpropionát (DMSP) viz obr. 3 (Kocsis *et al.*, 1998).



Obr. 3 – Znamé kroky biosyntézy DMSP v *Wollastonia biflora* (Asteraceae) a v mořské zelené řase *Ulva intestinalis*. U *W. biflora* nebyly indikovány žádné přechodné sloučeniny mezi L-SMM a DMSP-ald (podle Kocsis *et al.*, 1998).

Biosyntéza u rostlin z čeledi Asteraceae se výrazně liší od biosyntézy v zelené řase *Ulva intestinalis*. Z těchto rozdílů usuzujeme, že biosyntéza DMSP se v organismech vyvinula vícekrát než jednou. U rostlin z čeledi lipnicotvaré se může syntéza lišit od čeledi Asteraceae přechodnými sloučeninami, jelikož předci čeledě lipnicotvaré a složnokvěté se od sebe oddělily již před 100 miliony let (Kocsis *et al.*, 1998; Crane *et al.*, 1995).

Intracelulární koncentrace dimethylsulfidpropionátu (DMSPp-particule) se liší v různých druzích fytoplanktonu. Velmi malá část DMSPd (dissolved) je vyloučena zdravými dospělými buňkami (Kiene *et al.*, 2000). Fytoplankton může mít tři důvody k uvolnění DMSP

do vody. 1) DMSP je vylučován spolu s růstem buněk. 2) při úmrtí buněk dochází k uvolnění intracelulárního DMSP, který je rozkládán na DMS (Kwint & Kramer, 1995). 3) při požití fytoplanktonu zooplanktonem, kdy dochází k narušení buněk (Dacey & Wakeham, 1986). V buňkách fytoplanktonních producentů je dimethylsulfidpropionát oddělen fyzicky od DMSP-lyázy, a proto je koncentrace DMS vylučovaná zdravými buňkami velmi nízká (Van Bergeijk & Stal, 2001). Vysoké intracelulární koncentrace byly naměřeny u zlativek (*Chrysamoeba* sp., *Ochromonas* sp.), rozsivky (*Melosira nummuloides*), kokolitky (*Emiliana huxleyi*), u obrněnky (*Prorocentrum* sp.) a u druhu *Phaeocystis* sp. (haptofyta). Koncentrace DMSP se měří v  $\mu\text{M}$  (mikromol na litr) v jednom litru vody. Intracelulární koncentrace se obvykle pohybují mezi 30–400  $\mu\text{M}$  a představují 50–100 % intracelulární síry. Koncentrace se u jednotlivých skupin mohou výrazně měnit i během sezóny (Yoch, 2002; Matrai & Keller, 1994). Nejneobvyklejším zdrojem DMSP je ploštěnc *Symsagittifera roscoffensis* (obr. 4) z kmene Platyhelminthes. Tento ploštěnc žije symbioticky s prasinofytní řasou *Tetraselmis* sp. Tyto ploštěnci se shlukují na dně, kde byla naměřena vysoká koncentrace DMS. V kulturách izolovaných *Tetraselmis* nebyla zjištěna DMSP-lyáza, a proto usuzujeme, že je DMSP-lyáza produkována *S. roscoffensis*. Shluky helmintů využívají DMSP na obranu proti predátorům (Van Bergeijk & Stal, 2001; Franks *et al.*, 2016).

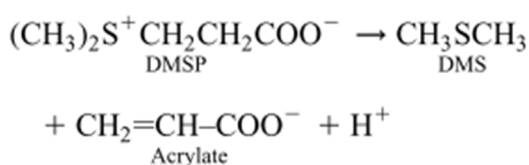


Obr. 4 – Shluk helmintů *Symsagittifera roscoffensis* na mořském dně (podle Franks *et al.*, 2016).

## 2.2 Dimethylsulfid

DMS neboli dimethylsulfid je nestálá sloučenina síry, která je produkována v oceánech v objemu  $>10^7$  tun za rok (Alcolombri *et al.*, 2015). Konkrétní role této sloučeniny není přesně jasná. S jistotou ale můžeme říct, že zajišťuje tok síry z oceánu do atmosféry, dává vznik kondenzačním jádrům mraků a také, že je chemoatraktantem pro fytoplankton, zooplankton, ryby i mořské ptáky (Seymour *et al.*, 2010). Jeho prekurzorem je DMSP, který je rozkládán

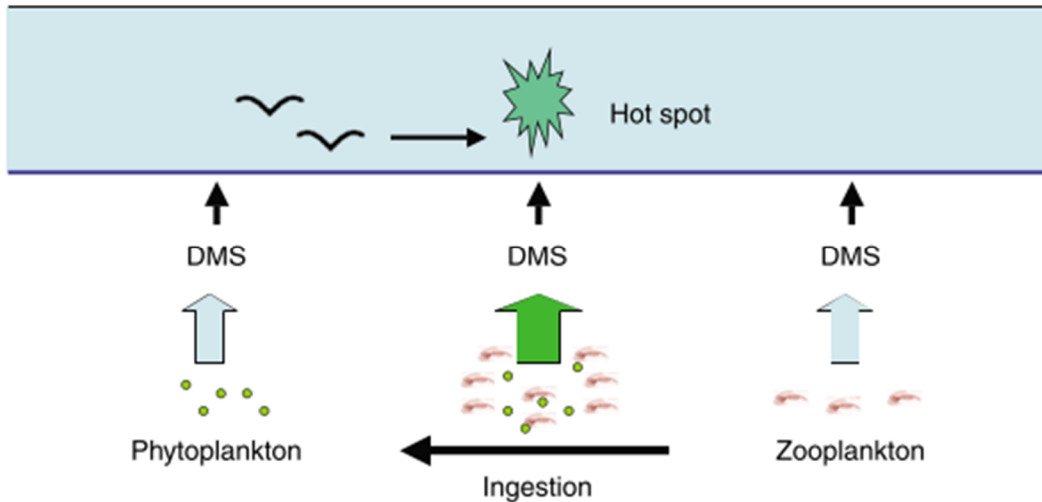
DMSP-lyázou. DMSP-lyázu lze najít u bakterií, mořského fytoplanktonu (*Emiliana huxleyi*, *Phaeocystis*), ale i některých hub (Ascomycetes). Mezi nejznámější producenty DMS řadíme *Phaeocystis*. Zástupci tohoto rodu vyloučí v době tvorby vegetačních zákalů 0.05 Tmol DMS rok<sup>-1</sup>, což činí 5 až 10 % celosvětové produkce DMS (Mohapatra *et al.*, 2014). Rozklad DMSP bakteriemi se může ubírat dvěma směry. Bakterie mohou využívat demethylace DMSP, která slouží k vazbě síry. Ve chvíli, kdy je poptávka po síře naplněna, tak bakterie přechází k rozkladu DMSP DMSP-lyázou na DMS, akrylát a H<sup>+</sup> (obr. 5) (Vila-Costa *et al.*, 2014). Naměřená data ukazují, že 1–30 % DMSP je vstřebáváno jako zdroj síry a méně než 10 % je rozkládáno na DMS (Kiene *et al.*, 2000).



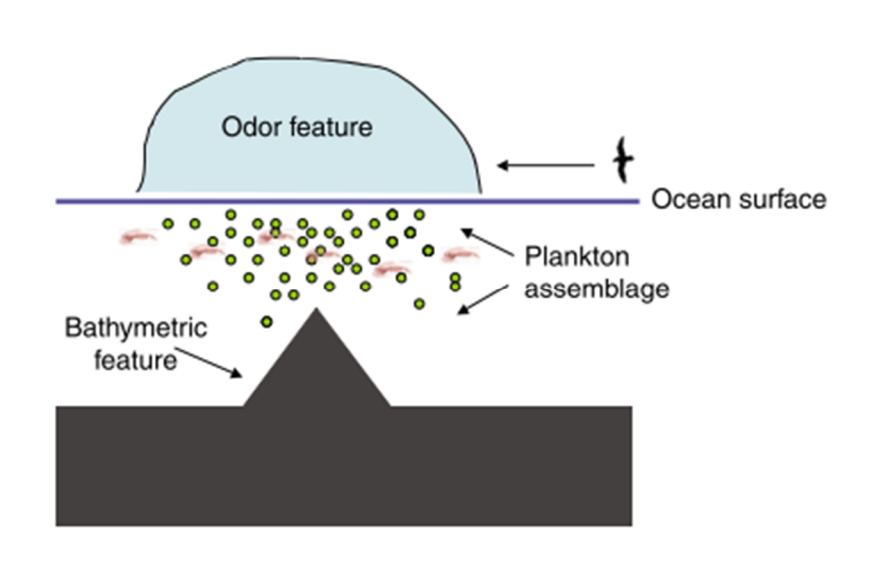
Obr. 5 – rozklad DMSP na DMS, akrylát a H<sup>+</sup> (podle Kiene *et al.*, 2000)

Vzniklý DMS je oxidován fotochemickými reakcemi, rozkládán mikrobiální aktivitou nebo uvolňován do atmosféry (Toole *et al.*, 2003). Domníváme, že mikrobiální rozklad je významnější, jelikož probíhá rychleji. Při uvolňování DMS do atmosféry DMS oxiduje a vytváří aerosol SO<sup>2</sup><sub>4</sub>, který slouží jako nukleační jádra pro vznik mraků. Tyto mraky se vytváří nad vzdálenými mořskými ekosystémy, kde ovlivňují množství dopadu slunečních paprsků na Zemi (Kiene & Bates, 1990).

DMS funguje také jako signální molekula. Fytoplankton může být přitahován k DMS jako ke zdroji síry nebo uhlíku. Naopak jiné fytoplanktonní druhy jsou jím odpuzovány z důvodů, že DMS je chemoatraktantem pro predátory (Seymour *et al.*, 2010). DMS je vylučován fytoplanktonem i zooplanktonem v relativně malém množství, ve chvíli predace fytoplanktonu zooplanktonem, hodnota vyloučeného DMS stoupá a vznikají „hot spots“ (oblasti s velkou koncentrací DMS), které lákají predátory zooplanktony (např. ryby a olihně). Dochází ke shromažďování potenciaální kořisti pro dravé ptáky (trubkonosí, tučňáci) (Nevitt, 2008; Cunningham *et al.*, 2008), mořské savce (Kowalewsky *et al.*, 2006), ryby i paryby (Martin, 2007) (obr. 6). Jelikož se ptáci řádu trubkonosí často vydávají za potravou daleko nad oceán, využívají DMS také k orientaci při letu nad oceánem (obr. 7).

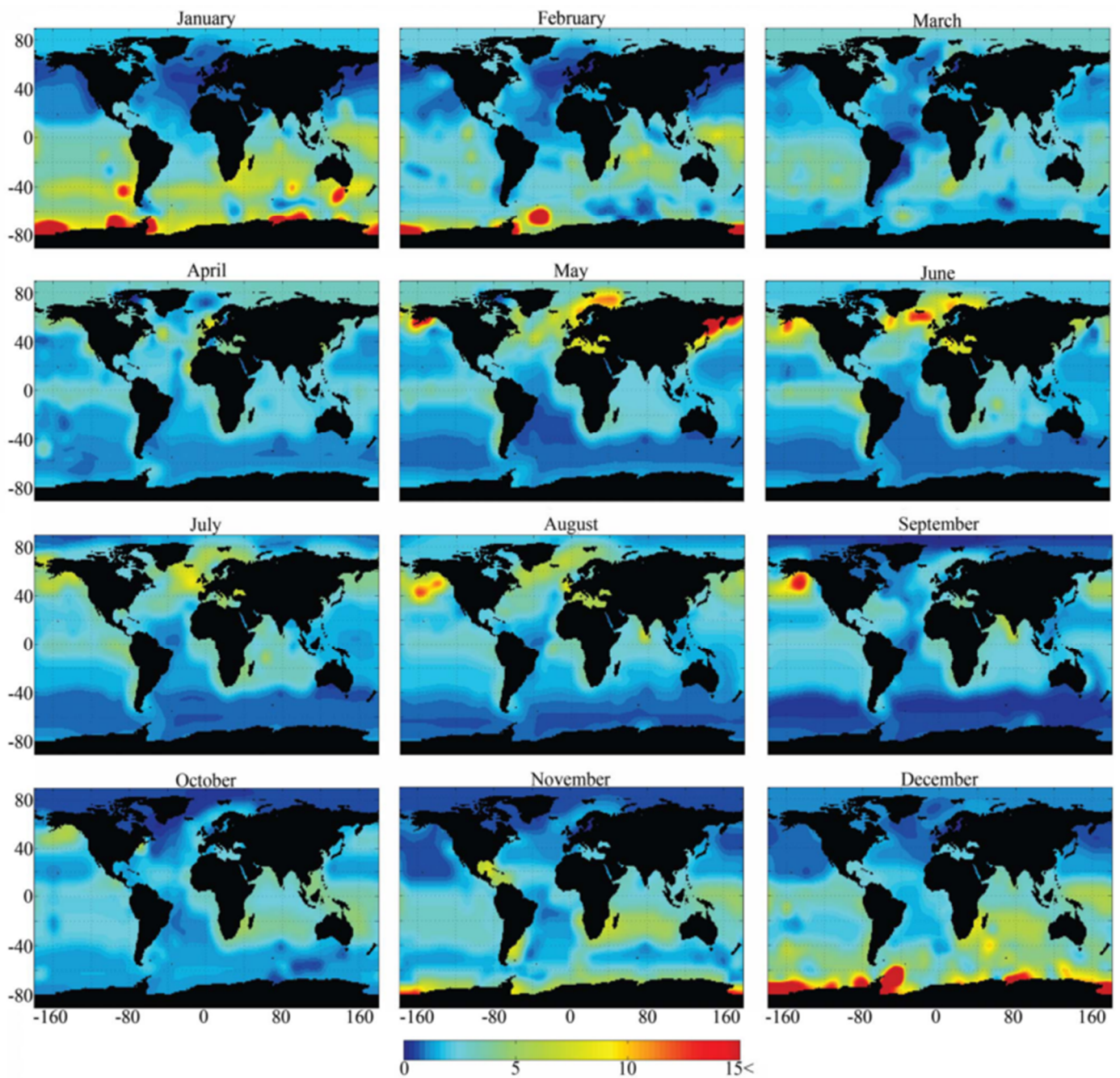


Obr. 6 – Nad podmořskou horou (bathymetric feature) dochází ke koncentraci fytoplanktonu (assemblage), který přitahuje zooplanktonní predátory. Predací dochází ke zvýšení objemu DMS vyloučeného nad oceánem a vzniku pachového oblaku (odor feature). Ptáci řádu trubkonosí díky velmi citlivému čichu mohou využít této oblasti k orientaci nad oceánem (podle Nevitt, 2008).

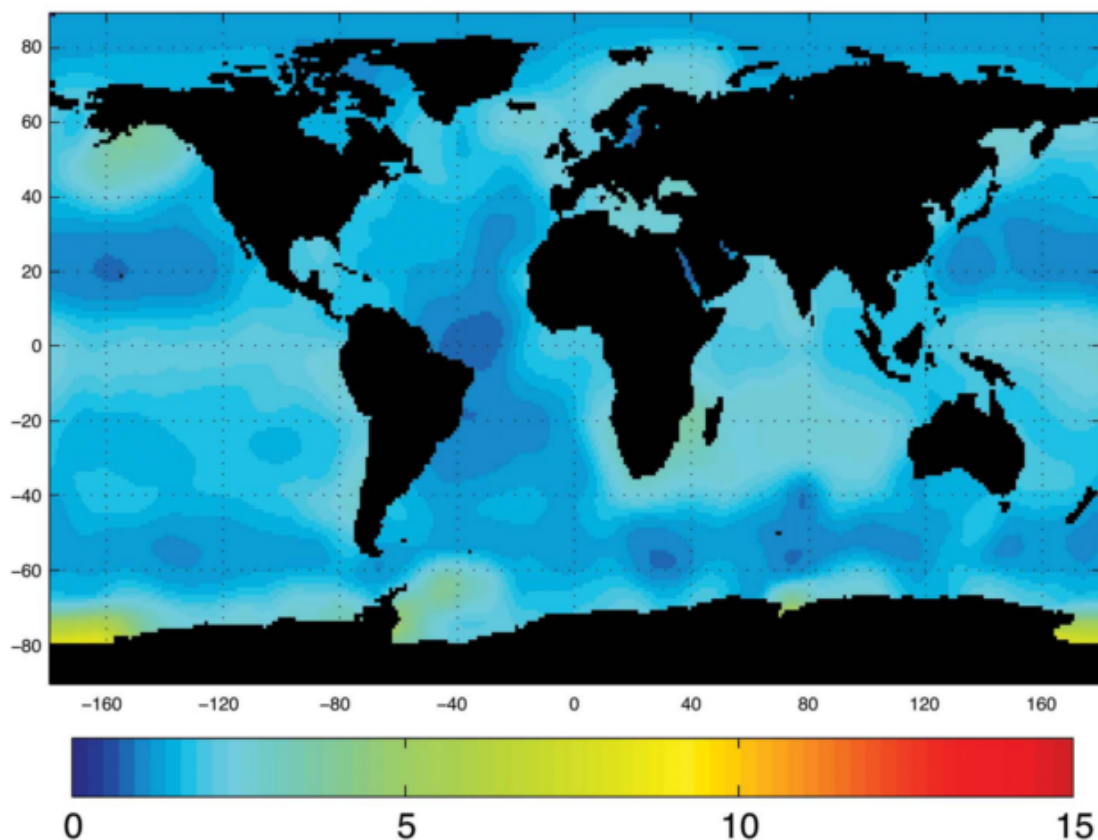


Obr. 7 – Nad podmořskou horou (bathymetric feature) dochází ke koncentraci fytoplanktonu (assemblage), který přitahuje zooplanktonní predátory. Predací dochází ke zvýšení objemu DMS vyloučeného nad oceánem a vzniku pachového oblaku (odor feature). Ptáci řádu trubkonosí díky velmi citlivému čichu mohou využít této oblasti k orientaci nad oceánem (podle Nevitt, 2008).

Koncentrace DMS nad oceánem se mění v průběhu sezony (obr. 8). Nejvyšší koncentrace DMS jsou v létě. Na jižní polokouli je produkce DMS vyšší než na severní (obr. 9).



Obr. 8 – koncentrace (nM) DMS měřené v průběhu roku. Koncentrace se běžně pohybovaly mezi 1 – 7 nM. Pouze 1 % hodnot dosahovalo > 10 nM. Produkce DMS je ovlivněna sezonou a nejproduktivnější jsou polární, subpolární oblasti a některé oblasti v blízkosti kontinentů (podle Lana *et al.*, 2011).



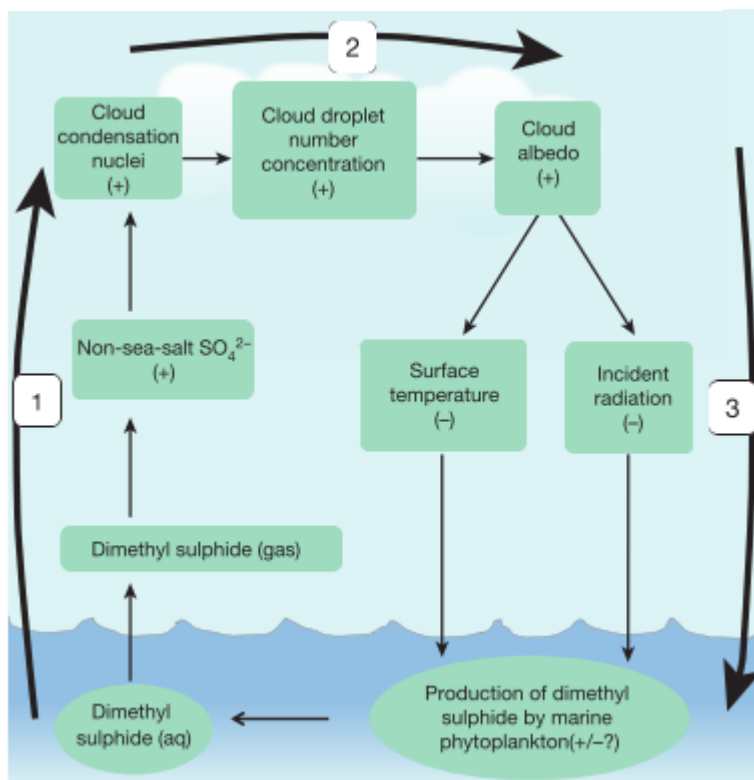
Obr. 9 – Průměrné roční koncentrace (nM). Nejproduktivnější oblast je blízko jižního pólu (podle Lana *et al.*, 2011).

### 2.3 Regulace klimatu

DMS snadno přechází z oceánu do atmosféry. Tato ventilace je ovlivněna biotickými (množství fytoplanktonu, množství zooplanktonu) i abiotickými (vítr a teplota) faktory. Při uvolňování DMS dochází k oxidaci hydroxylovými radikály na oxid siřičitý ( $\text{SO}_2$ ) a methylsulfonát (MSA) (Quinn & Bates, 2011).  $\text{SO}_2$  je obvykle oxidován na sírany (nss-  $\text{SO}_4^{2-}$ ; non-sea-salt  $\text{SO}_4^{2-}$ ), který společně s MSA vytváří kondenzační jádra mraků (CCN; z anglického názvu cloud-condensation nuclei) kyselého charakteru. Na těchto jádrech kondenzuje pára z atmosféry a vzniká vyšší oblačnost (Green & Hatton, 2014). Pokud vyloučíme z produkce síranových aerosolů pálení uhlí a dřeva, připadá až 50 % produkce síranu na DMS. Oxid siřičitý je také produkován v sopkách a ve fumarolách, což představuje jedinou zásadní nebiologickou produkci plynného síranu. (Andreae, 1985). V roce 1987 byla formována hypotéza CLAW autory Charlson, Lovelock, Andreae, a Warren (akronym CLAW je složen z počátečních písmen autorů) (Charlson *et. al*, 1987). Autoři předpokládali, že vyprodukovaná kondenzační jádra, ovlivňující oblačnost, zpětně ovlivňují mořský fytoplankton v produkci DMS. Hypotéza očekává, že při zvýšení koncentrace CCN (a tedy zvýšení oblačnosti/mračného albeda), dojde

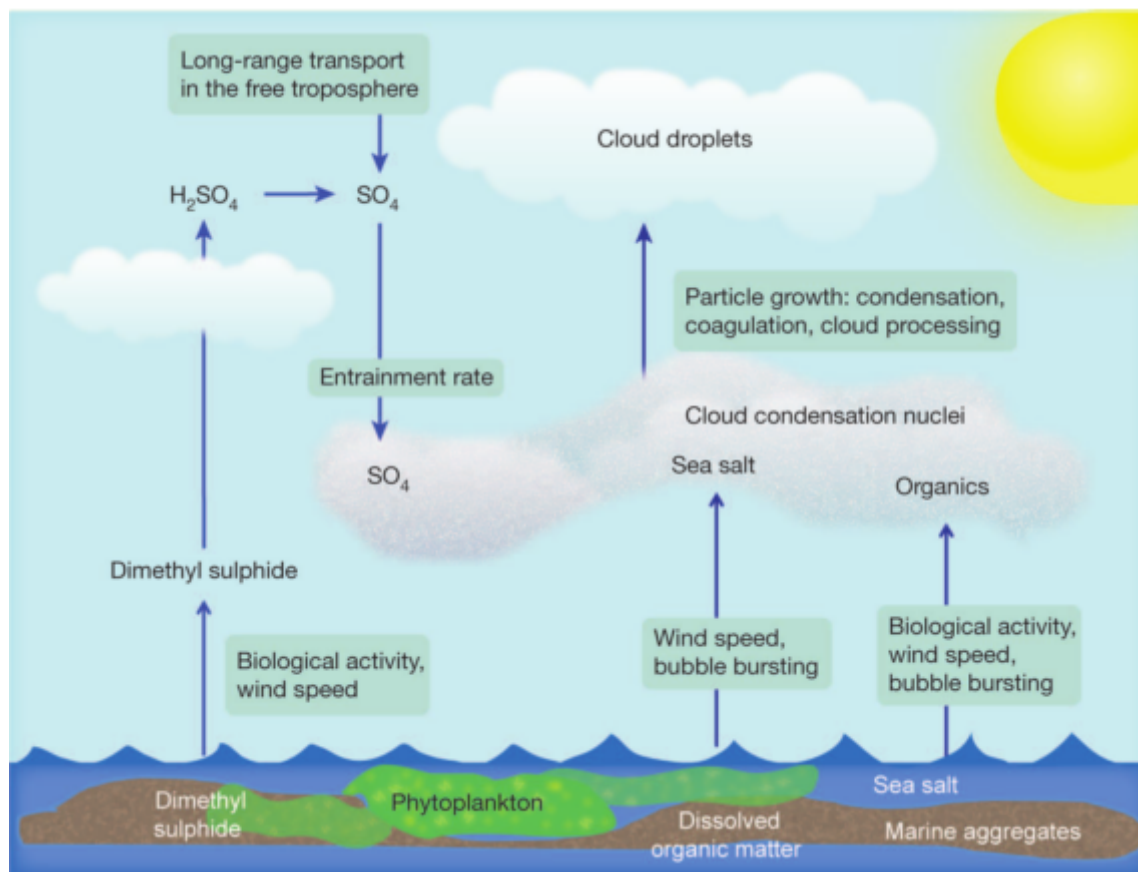


ke snížení radiace dopadající na zem, což ovlivňuje populaci fytoplanktonu. Takto by mohla teoreticky vzniknout zpětnovazebná smyčka mezi koncentrací DMS a mračným albedem. Smyčka byla předpokládána k využití snížení globálního oteplování skrz zvýšení oblačnosti (obr. 10) (Charlson *et al.*, 1987).



Obr. 10 – Zpětnovazebná smyčka hypotézy CLAW. Ve vrchní vrstvě oceánů dochází k uvolňování DMS do atmosféry. DMS je v atmosféře oxidován za vzniku nss-  $\text{SO}_4^{2-}$  a MSA. Tyto štěpné produkty slouží jako kondenzační jádra, která zvyšují oblačnost a snižují povrchovou teplotu oceánu a množství dopadajícího záření. Tyto faktory ovlivňují produkci DMS, čímž se smyčka uzavírá (podle Quinn & Bates, 2011).

Hypotéza nebyla nikdy potvrzena. Bylo zjištěno, že aerosoly nevznikají pouze z DMS, ale i z mikroskopických částic polysacharidů, mikroorganismů a proteinů. Tyto částice se slepují a slouží také jako kondenzační jádra (obr. 11). Další faktor zpochybňující CLAW hypotézu je, že mraky vzniklé ze sirných aerosolů sice jsou sice větší, ale špatně se trhají, takže se zvyšování albeda v konečném výsledku zpomaluje (Quinn & Bates, 2011; Green & Hatton, 2014).



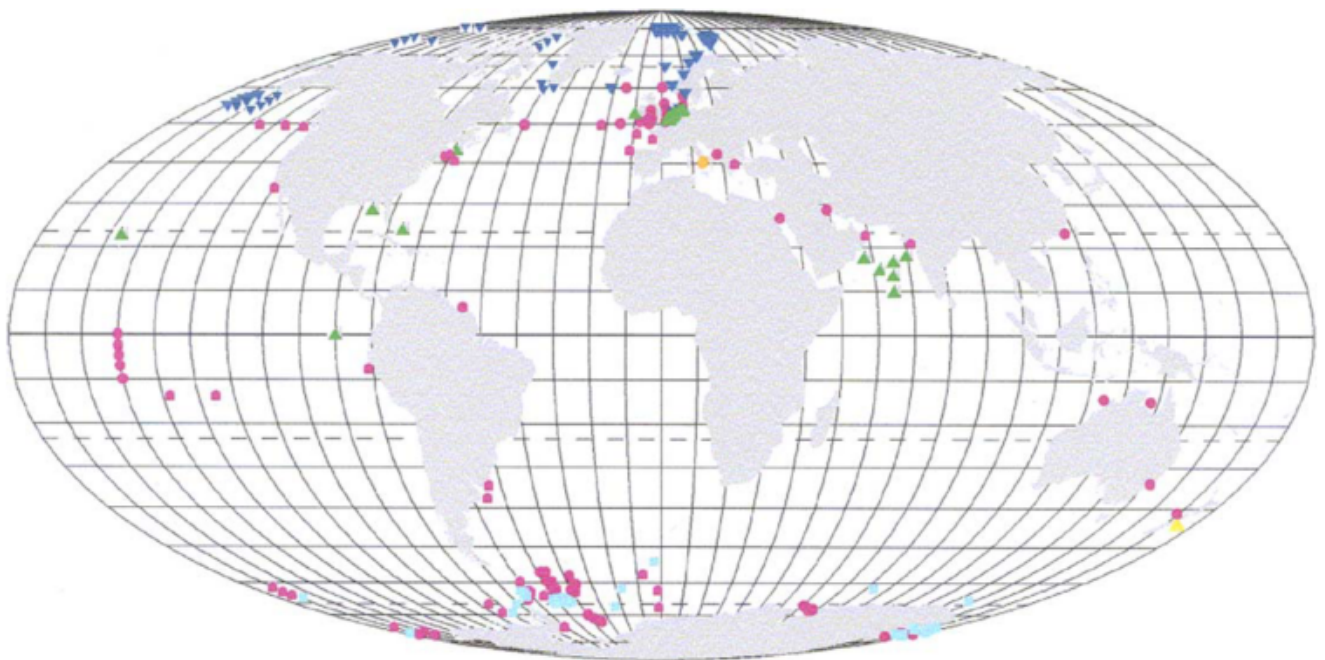
Obr. 11 – Dnešní pohled na produkci kondenzačních jader nad oceánem. Jádra vznikají z DMS a z mikročastic organismů, proteinů a polysacharidů. Přechod z oceánu do atmosféry je umožněn díky větru, vyublávání a biologické aktivitě (podle Quinn & Bates, 2011).

### 3 *Phaeocystis*

Rod *Phaeocystis* řadíme mezi haptofytní řasy. Haptophyceae, dříve Prymnesiophyceae, je třída jednobuněčných řas. Fylogenetická pozice této skupiny řas zatím není zcela objasněná. Další významný haptofytní producent DMSP je kokolitka *Emiliana huxleyi*. Zástupci rodu *Phaeocystis* jsou rozšířeni ve všech světových oceánech, jsou většinou euryhalinní a eurytermní tj. umí snášet široké rozpětí koncentrace soli ve vodě a teplot. Mnoho druhů fytoplanktonu je rozšířeno globálně, pouze ale několik z nich má tak velký dopad na ekosystém, že je lze zvažovat za klíčové druhy. Mezi tyto druhy řadíme i druhy rodu *Phaeocystis*. Druhy rodu *Phaeocystis* se objevují ve dvou životních formách: samostatní bičíkovci a slizové kolonie. Druhy se mohou vyskytovat pouze jako bičíkovci nebo mohou přecházet mezi oběma typy. Rod *Phaeocystis* je výjimečný, protože je to jediný známý fotosyntetizující organismus, který dokáže dominovat svojí koloniální formou celému ekosystému. Produkci DMSP *Phaeocystis* ovlivňuje podnebí nad oceánem a poskytuje biogenní zdroj síry a uhlíku pro mořské organismy

(Lancelot *et al.*, 1992). Přestože byl rod *Phaeocystis* popsán již roku 1893 Langerheimem, tak počet druhů a životní cyklus zůstává stále nejasný (Rousseau *et al.*, 2007). Rod *Phaeocystis* zahrnuje deset taxonomicky přijatých druhů *P. amoeboides*, *P. brucei*, *P. rex*, *P. sphaeroides*, *P. antarctica*, *P. globosa*, *P. pouchetii*, *P. jahnii*, *P. scrobiculata*, *P. cordata*. Rozdíly mezi druhy se objevují ve tvaru a velikosti buněk, přítomnosti koloniální formy a v habitatu (Vaulot *et al.*, 1994; Guiry, 2016).

Obrázek 12 zobrazuje rozložení druhů *Phaeocystis* ve světových oceánech. Samostatní bičíkovci (*P. amoeboides*, *P. brucei*, *P. rex*, *P. sphaeroides*, *P. jahnii*, *P. scrobiculata*, *P. cordata*) se vyskytují globálně a velmi řídkce tvoří kolonie. *P. globosa* se vyskytuje v temperátních a tropických oblastech, *P. pouchetii* a *P. antarctica* jsou lépe adaptovány na studené vody, a tak žijí v polárních a subpolárních oblastech. Tyto tři druhy kolonie tvoří (Schoemann *et al.*, 2005).

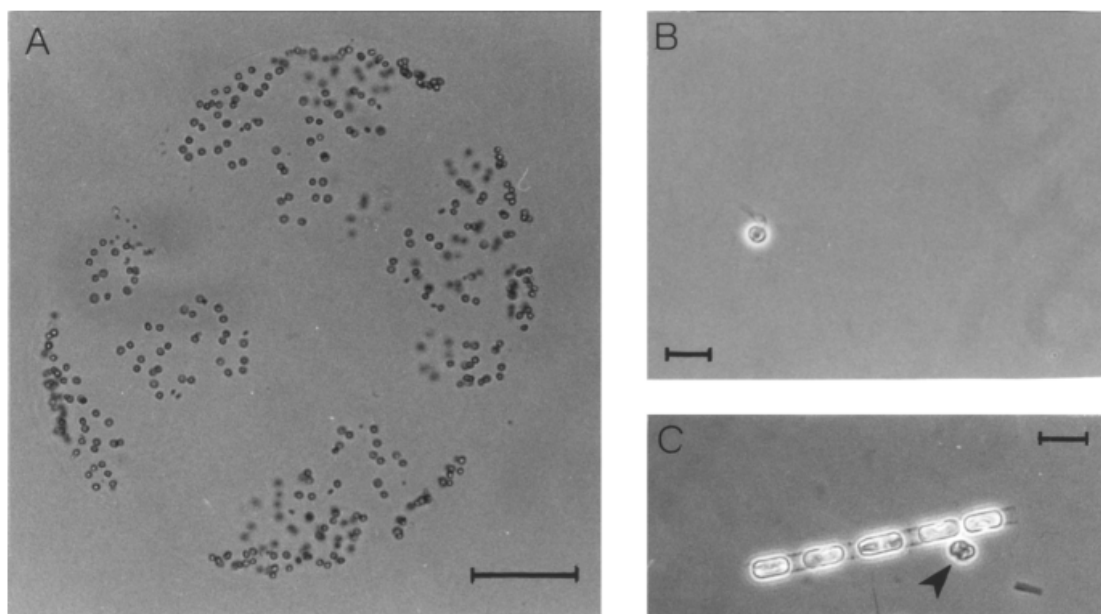


Obr. 12 – Rozmístění druhů *Phaeocystis* ve světových oceánech. *P. pouchetii* je označen tmavě modrými trojúhelníky, *P. globosa* zelenými trojúhelníky, *P. antarctica* světle modrými čtverci, *P. scrobiculata* žlutými trojúhelníky, *P. jahnii* a *P. cordata*, které se nacházejí na stejném místě, jsou označeny oranžovým kolečkem. Neidentifikované nebo nepopsané druhy *Phaeocystis* jsou označeny růžovými kolečky (podle Schoemann *et al.*, 2005).

Pro popsání morfologie buněk a následnou determinaci druhu je vhodné kombinovat různé metodické postupy: světelnou mikroskopii (LM), transmisní a skenovací elektronovou

mikroskopii (TEM, SEM), průtokovou cytometrii. Světelná mikroskopie je užitečná při určování tvaru a velikosti buňky, přítomnosti bičíku a počtu buněk v kolonii. SEM a TEM jsou využívány pro zkoumání ultrastruktury a povrchů buněk. Průtoková cytometrie je využívána pro určení ploidie buněk (Rousseau *et al.*, 2007).

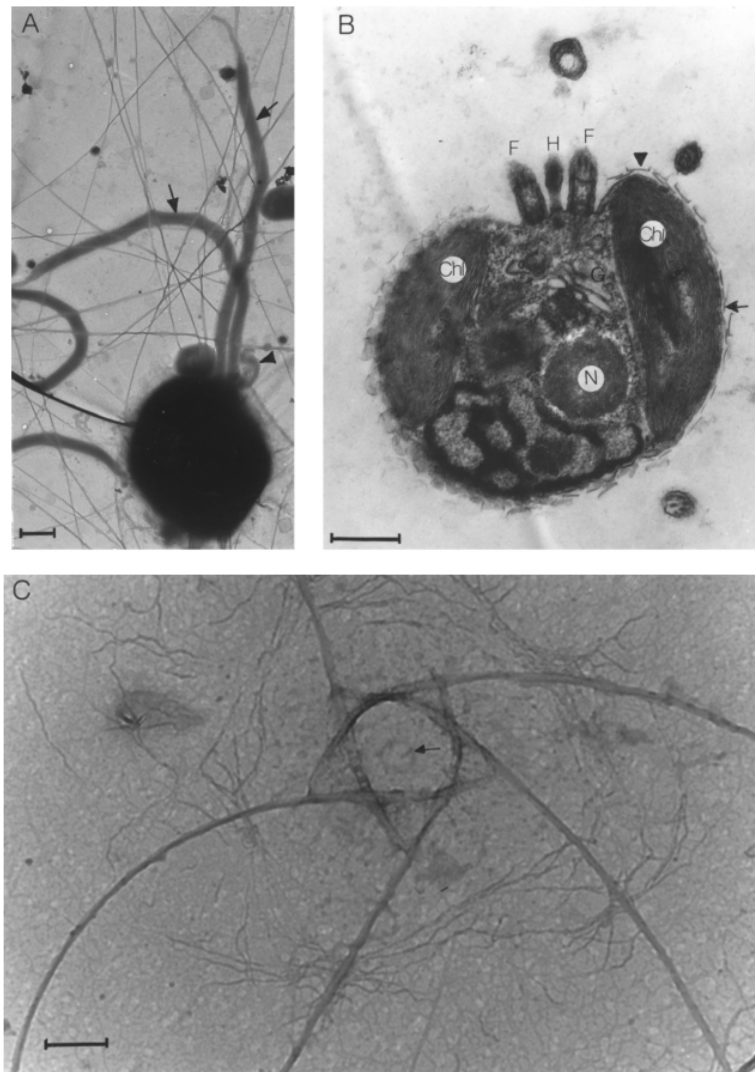
V životním cyklu *Phaeocystis* se vyskytují dvě základní životní formy: volný bičíkovec (3–9  $\mu\text{m}$ ) a slizová kolonie (až několik mm) (viz obr. 13). Pouze tři druhy s jistotou tvoří stabilní slizové kolonie – *P. globosa*, *P. pouchetii* a *P. antarctica*. Ostatní druhy netvoří kolonie v pravém slova smyslu, ale byly objeveny náznaky shlukování. Vegetační zákaly jsou tvořeny většinou obřími koloniemi (Jacobsen, 2002; Peperzak *et al.*, 2000). Pro rozlišování druhů využíváme taxonomických znaků jako je délka bičíků a haptonemy, tvar buňky, typy vystřelovacích vláken a také typy kolonií (Jacobsen, 2002).



Obr. 13 – Fotografie *Phaeocystis pouchetii* (přírodní vzorek) A. mladá kolonie, měřítko = 100  $\mu\text{m}$ . B. Bičíkovec, měřítko = 10  $\mu\text{m}$ . C. Šipka ukazuje na buňku přisedající na *Skeletonema costatum*. Buňka je bez bičíků a připravuje se na stavbu kolonie, měřítko = 10  $\mu\text{m}$ . (podle Jacobsen, 2002)

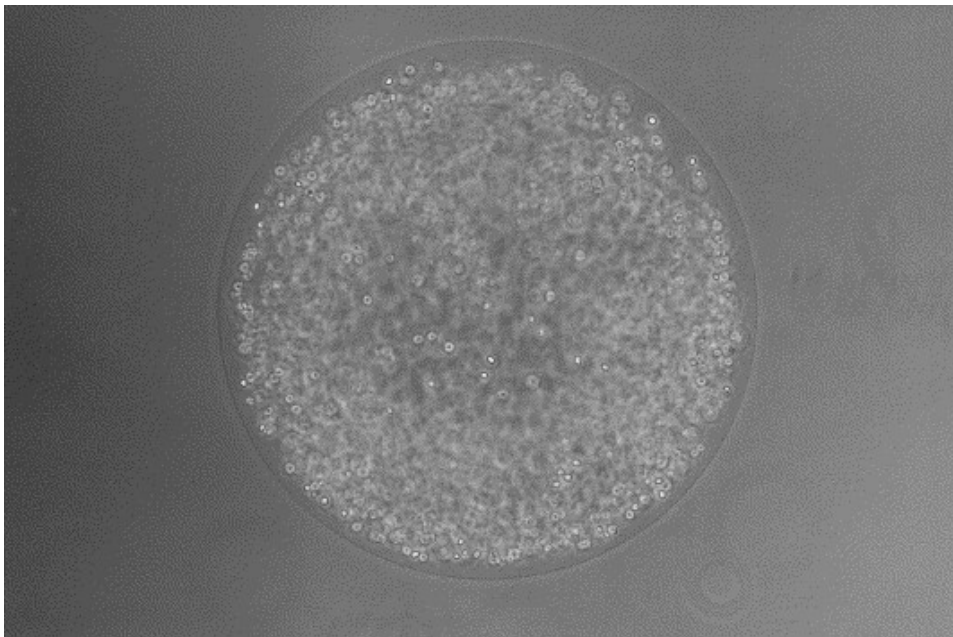
Životní cyklus jednotlivých druhů je složitý a není zcela jasný. Slizová kolonie vzniká agregací bičíkovců. Bylo objeveno celkem 15 typů buněk v rodu *Phaeocystis*. Sedm typů je jednobuněčných: diploidní bičíkovec, diploidní buňka bez bičíků, bentická diploidní buňka bez bičíků, diploidní bičíkovec tzv. makrozoospora, haploidní bičíkovec tzv. mikrozoospora, haploidní mikrobičíkovec a haploidní mesobičíkovec. Zbylé typy buněk dělíme na tři skupiny.

1. skupina jsou buňky z tvořící se kolonie, 2. skupina jsou buňky malé, velké a střední z dospělé kolonie a 3. skupinu tvoří buňky z umírající kolonie (3 typy). Buňky umí přecházet mezi jednotlivými typy buněk na základě chemických a fyziologických signálů (Whipple *et. al.*, 2005). Buňky se liší tvarem šupin, počtem bičíků, ploidií, velikostí, typem a přítomností vystřelujících chitinových vláken (tvoří star-like strukturu) a také výskytem ve vodním sloupci (obr. 14) (Peperzak *et al.*, 2000).

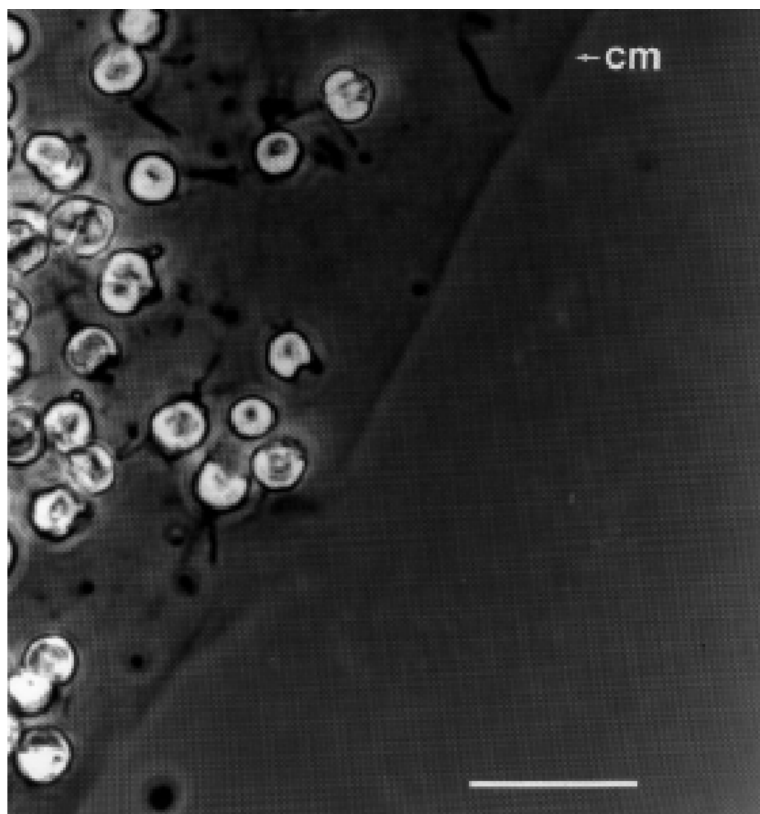


Obr. 14 – Fotografie *Phaeocystis pouchetii* z elektronového transmisního mikroskopu (TEM). A. Skupina bičíkoců, šipky ukazují na bičíky, hlavička šipky označuje haptonema. Měřítko = 1  $\mu\text{m}$ . B. Průřez buňkou bičíkovce (kmen AJ01). Šipka ukazuje vnitřní šupiny, hlavička šipky označuje vnější šupiny. F – Bičík; H – Haptonema; N – Jádru; Chl – Chloroplast; G – Golgiho aparát. Měřítko = 0.5  $\mu\text{m}$ . (Fotografie pořízena Dr W. Eikrem.) C. Hvězdicovitá struktura s centrálním pórem. Měřítko = 0.5  $\mu\text{m}$  (podle Jacobsen, 2002).

O příčinách změny samostatně žijících buněk v kolonie buněk se toho mnoho neví. Kulovitá kolonie (obr. 15) je obalená silnou polopropustnou vrstvou o tloušťce 6–8  $\mu\text{m}$  (angl. colony skin) (obr. 16). Tato vrstva obsahuje póry o velikosti 1–4,4 nm a chrání buňky uvnitř kolonie hlavně před bakteriemi a viry. Ochrana kolonie je pouze mechanická, proti větším organismům jako mořští koryši je bezbranná (Hamm, 2000). Buňky se v kolonii vyskytují především zevnitř obalové vrstvy, ale těsně k ní nepřiléhají. Vnitřek kolonie je naplněn směsí jednoduchých organických látek a vodou (lumen). Distribuce buněk v kolonii se liší podle druhů, mohou být rozloženy nepravidelně u *P. globosa* nebo uspořádány shlukovitě u *P. pouchetii*. Obalová vrstva kolonie je složením z 10 % uhlíku a dále z polysacharidů. Kolonie slouží jako mechanická obrana buněk a má i potenciál jako zásobárna látek pro růst buněk (van Rijssel *et al.*, 1997). Kolonie jednotlivých druhů se liší velikostí a tvarem kolonie a uspořádáním buněk v kolonii (Hamm, 2000). Ovlivnění morfologie kolonií prostředím není zcela jasné, ale např. víme, že hustota buněk v kolonii klesá se zvyšujícím se obsahem fosforu (Vaulot *et al.*, 1994).



Obr. 15 – Fotografie ze světelného mikroskopu. Kolonie *Phaeocystis globosa* byla nabraná z vod Golfského proudu na východním pobřeží jihu USA. Kolonie rostla v nádobě bez přítomnosti zooplanktonu ( $>63 \mu\text{m}$ ) a v teplotě 20–22 °C. Poloměr kolonie byl 525  $\mu\text{m}$  (podle Verity & Medlin 2003).



Obr. 16 – Fotografie ze světelného mikroskopu. Kolonie *Phaeocystis* se zřetelnými mikrobičkovci, vzorek byl nabrán ze dna vzorku ze stanice NW10, severní moře (dne 129 1992). Membrána kolonie je viditelná s označením cm (colony membrane). Měřítko = 10  $\mu\text{m}$  (podle Peperzak *et al.*, 2000).

### 3.1 Produkce DMSP druhů rodu *Phaeocystis*

DMSP slouží jednobuněčným řasám rodu *Phaeocystis* především jako ochrana před stresem. DMSP je produkováno intracelulárně a při uvolnění rozkládáno DMSP-lyázou na DMS. DMS se podílí na koloběhu uhlíku v oceánech a koloběhu síry v oceánech i atmosféře. Přesný důvod produkce u *Phaeocystis* nám není známý (Kiene *et al.*, 2000).

#### 3.1.1 UV záření

*Phaeocystis* se hojně vyskytuje ve studených polárních vodách. Na jaře a v létě je v oblasti Antarktidy nízký obsah ozonu ( $\text{O}_3$ ) v atmosféře a tak dochází k průniku UV-B záření do atmosféry i do oceánu. UV-B (320–280 nm) záření dosahuje až do 50 m hloubky v oceánu, a tak může ovlivňovat život všech vodních organismů v této části vodního sloupce včetně fytoplanktonních druhů rodu *Phaeocystis* (Smith *et al.*, 1992). Během jara dochází ke květu populace *Phaeocystis antarctica* v horních deseti metrech vodního sloupce, a tak je tento druh dobře využitelný pro zjištění korelace mezi množstvím buněk a množstvím ozonu v atmosféře. Se vzrůstající koncentrací ozonu dochází ke zvyšování abundance *Phaeocystis* (Hefu & Kirst,

1997). Tento poznatek vedl k měření, jak intracelulární množství DMSP souvisí se zvyšujícím se UV-B zářením. Dle Hefu & Kirst (Hefu & Kirst, 1997) množství DMSP stoupá při ozáření buněk PAR (angl. Photosynthesis active radiation). Naopak při ozáření buněk UV-A a UV-B dochází ke snižování množství intracelulárního DMSP a ke zvyšování vyloučeného DMS. Z těchto výsledků vyplývá, že ozáření PAR je důležité pro tvorbu DMSP, naopak UV záření snižuje produkci DMSP v buňkách řas. UV záření má tedy negativní vliv na syntézu DMSP v buňkách. UV záření má také vliv na štěpení DMSP na DMS. Se zvyšujícím se UV zářením docházelo k rychlejšímu štěpení DMSP DMSP-lyázou. Toto štěpení vede k zvýšenému množství DMS v oceánu a tedy k navýšení uvolňování DMS do atmosféry a spotřebě DMS v oceánu.

### **3.1.2 Vliv nedostatku železa na produkci DMSP**

Oceány na jižní polokouli jsou bohaté na makroprvky. Tyto oceány nejsou ale moc bohaté na železo (Fe), a tak se železo stává limitujícím prvkem pro mnoho organismů. Obsah železa v oceánu ovlivňuje květ fytoplanktonu, cyklus uhlíku, dusíku, síry a křemíku. Koncentrace tohoto prvku by mohla mít dopad i na klima (Boyd *et al.*, 2007). Obvyklá koncentrace Fe v oceánech se pohybuje mezi 0.15 – 0.16 nM. V oceánech blízko jižního pólu je koncentrace 0.03 – 0.25 nM (Coale *et al.*, 2005). Železo je důležitým prvkem pro biosyntézu chlorofylu a transport elektronů ve fotosyntetických a dýchacích řetězcích. V případě nedostatku železa je omezen růst buněk i jejich konečná velikost (Raven *et al.*, 1999). Železo je také zapojeno do příjmu dusíku jako komponent v enzymu nitrát a nitrit reduktáza, takže jeho nedostatek může způsobit také nedostatek dusíku v buňkách. Železo je součástí enzymů: kataláza, askorbát peroxidáza a superoxid dismutáza. Tyto enzymy jsou antioxidanty a regulují koncentraci ROS (reactive oxygen species) v buňce (Raven *et al.*, 1999). Jelikož DMSP je účinný intracelulární antioxidant a nedostatek železa je spojen s vyšším výskytem ROS, byl navržen pokus, jak zjistit vliv nedostatku železa na produkci DMSP ve *Phaeocystis*. Bylo tedy uskutečněno několik pokusů na zjištění vlivu nedostatku železa na řasy (Kinsey *et al.*, 2015)(van Leeuwe & Stefels, 1998). Nedostatek železa se projevuje sníženou hustotou buněk ve vodě, pomalejším růstem a menší finální velikostí. Při růstu buněk s nedostatkem železa byla naměřena zvýšená koncentrace DMSP, akrylátu i DMSO. Tento výsledek naznačuje silnou vazbu mezi nedostatkem železa a produkcí DMSP, DMSO a akrylátu a podporuje funkci DMSP jako antioxidantu (Kinsey *et al.*, 2015).



### 3.1.3 Virová infekce

DMSP je uvolňováno ze zdravých buněk ve velmi malém množství. Virová infekce může nakazit více fytoplanktonních taxonů např. *Emiliana huxleyi* nebo *Phaeocystis*, které jsou významnými producenty DMSP (Yoch, 2002). DMSP se běžně dostává do vody při květu, predaci, senescenci buněk. Viry se vyskytují v oceánech ve větším množství než bakterie. Při nákaze buňky virem může dojít k její lyzi. V tomto případě dojde k rychlému uvolnění živin z buňky (především C), živiny jsou dále využívány bakteriemi. Můžeme tedy říct, že viry jsou součástí mořského ekosystému a zajišťují stabilní tok živin mezi planktonními organismy (Brussaard *et al.*, 2007). Virová infekce je jeden z faktorů, který by mohl zvýšit objem DMSP vyloučeného do vody, který může být dále využit bakteriemi a dalšími vodními organismy. Malin *et al.* provedli výzkum, jak virová infekce buněk *Phaeocystis* sp. působí na produkci DMSP. Ukázalo se, že infikované buňky produkovaly 14 krát více DMSP než kontrolní skupina (Malin *et al.*, 1998). *Phaeocystis* se brání virové infekci tvorbou kolonií. I přesto se ale zdá, že virová infekce může mít klíčový dopad na uvolňování DMSP do oceánu.

## 4 Závěr

Dimethylsulfidpropionát je významná organická sloučenina. Tato sloučenina je zkoumána již od poloviny minulého století, a přesto stále nevíme vše o jejích fyziologických a ekologických funkcích, ani o její produkci. DMSP můžeme jednoznačně spojovat se stresem buněk, byl popsán jako efektivní osmolit, antioxidant a navržen jako kryoprotektant. DMSP a jeho štěpné produkty zajišťují velkou část cyklu uhlíku a až polovinu biogenní síry v jejím cyklu. DMSP hraje roli i v ovlivňování celého ekosystému. Funguje jako chemoatraktant pro fytoplankton i mořské obratlovce, je využíván ptáky k orientaci a tvoří kondenzační jádra mraků, čímž zvyšuje oblačnost nad oceánem. Produkovat DMSP dokážou terestrické rostliny i fytoplanktonní řasy. Moje práce se zaměřuje na druhy rodu *Phaeocystis*. Tyto druhy však nejsou, tak dobře prozkoumány jako *Emiliania huxleyi*, přestože patří z největších producentů DMSP a vegetační zákaly mohou mít výrazný dopad na ekosystém. *Phaeocystis* je rod s celosvětovým rozšířením. Produkce DMSP u zkoumaných druhů *Phaeocystis* se mění s vlivem UV záření, s obsahem železa v oceánech nebo v závislosti na virové nákaze.

DMSP je důležitou organickou sloučeninou, je však třeba dalšího výzkumu v oblasti jeho fyziologické i ekologické funkce. Byly provedeny pokusy týkající se produkce a funkce DMSP. Produkce DMSP je jednoznačně provázána se stresovými faktory jako UV záření, virová nákaza nebo nedostatek železa. V případě virové nákazy a nedostatku železa se produkce DMSP zvyšuje, DMSP má obranou a antioxidantivní funkci. Při nadměrném ozáření *Phaeocystis* UV zářením dochází ke snížení produkce DMSP a k rychlejšímu štěpení DMSP DMSP-lyázou. Toto štěpení vede k zvýšenému množství DMS v oceánu. Produkce je ovlivňována prostředím i životním stádiem buněk. Životní cyklus *Phaeocystis* není úplně dobře zmapovaný, hlavně jsou nejasné přechody mezi jednotlivými životními stadii. Díky této práci jsem se dozvěděla o komplexitě dějů v oceánech a o úzkých vztazích mezi organismy a prostředím, které stále nejsou detailně probádané.

## Bibliografie

- Alcolombri, U., Ben-Dor, S., Feldmesser, E., Levin, Y., Tawfik, D. S., & Vardi, A. (2015). Identification of the algal dimethyl sulfide–releasing enzyme: A missing link in the marine sulfur cycle. *Science*, *348*(6242), 1466–1469.
- Andreae, M. O. (1985). The Biogeochemical cycling of sulfur and nitrogen in the remote atmosphere. *Galloway, JN*, 5–25.
- Boyd, P. W., Jickells, T., Law, C. S., Blain, S., Boyle, E. A., Buesseler, K. O., ... Watson, J. (2007). Mesoscale iron enrichment experiments 1993–2005: synthesis and future directions. *Science (New York, N. Y.)*, *315*(5812), 612–617.
- Brussaard, C. P., Bratbak, G., Baudoux, A. C., & Ruardij, P. (2007). Phaeocystis and its interaction with viruses. *Biogeochemistry*, *83*(1–3), 201–215.
- Coale, K. H., Gordon, R. M., & Wang, X. (2005). The distribution and behavior of dissolved and particulate iron and zinc in the Ross Sea and Antarctic circumpolar current along 170 W. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, *52*(2), 295–318.
- Crane, P. R., Friis, E. M., & Pedersen, K. R. (2000). The origin and early diversification of angiosperms. *Shaking the Tree: Readings from Nature in the History of Life*, 233–250.
- Cunningham, G. B., Strauss, V., & Ryan, P. G. (2008). African penguins (*Spheniscus demersus*) can detect dimethyl sulphide, a prey-related odour. *Journal of Experimental Biology*, *211*(19), 3123–3127.
- Dacey, J. W., & Wakeham, S. G. (1986). Oceanic dimethylsulfide: production during zooplankton grazing on phytoplankton. *Science*, *233*(4770), 1314–1316.
- Dickson, D. M. J., & Kirst, G. O. (1987). Osmotic adjustment in marine eukaryotic algae: the role of inorganic ions, quaternary ammonium, tertiary sulphonium and carbohydrate solutes. *New Phytologist*, *106*(4), 645–655.
- Dickson, D. M., Jones, R. W., & Davenport, J. (1980). Steady state osmotic adaptation in *Ulva lactuca*. *Planta*, *150*(2), 158–165.
- Franks, N. R., Worley, A., Grant, K. A. J., Gorman, A. R., Vizard, V., Plackett, H., ... Sendova-Franks, A. B. (2016). Social behaviour and collective motion in plant-animal worms. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *283*(1825), 20152946.
- Green, T. K., & Hatton, A. D. (2014). The claw hypothesis: A new perspective on the role of biogenic sulphur in the regulation of global climate. *Oceanography and Marine Biology*, *52*, 315–336.

- Groene, T. (1995). Biogenic production and consumption of dimethylsulfide (DMS) and dimethylsulfoniopropionate (DMSP) in the marine epipelagic zone: a review. *Journal of Marine Systems*, 6(3), 191–209.
- Guiry in Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2016. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 11 May 2016.
- Hamm, C. E. (2000). Architecture, ecology and biogeochemistry of Phaeocystis colonies. *Journal of Sea Research*, 43(3–4), 307–315
- Hansen, T. A. (1995). Methanogenic conversion of 3- S -methylmercaptopropionate to 3-mercaptopropionate, 61(1), 48–51.
- Hefu, Y., & Kirst, G. O. (1997). Effect of UV-radiation on DMSP content and DMS formation of Phaeocystis antarctica. *Polar Biology*, 18(6), 402–409.
- Husband, J. D., & Kiene, R. P. (2007). Occurrence of dimethylsulfoxide in leaves, stems, and roots of *Spartina alterniflora*. *Wetlands*, 27(2), 224–229.
- Charlson, J., Lovelock, E. J., Andreae, M. O., & Warren, S. G. (1987). Oceanic phytoplankton, atmospheric sulfur, cloud albedo and climate. *Nature*, 326(6114), 655–661.
- Iverson, R. L., Nearhoof, F. L., & Andreae, M. O. (1989). Production of dymethylsulfonium propionate and dymethylsulfide by phytoplankton in estuarine and coastal waters. *Limnology and Oceanography*, 34(1), 53–67.
- Jacobsen, A. (2002). Morphology, relative DNA content and hypothetical life cycle of Phaeocystis pouchetii (Prymnesiophyceae); with special emphasis on the flagellated cell type. *Sarsia: North Atlantic Marine Science*, 87(5), 338–349.
- James, F., Pacqut, L., Sparace, S. A., Gage, D. A., & Hanson, A. D. (1995). Evidence implicating dimethylsulfoniopropionaaldehyde as an intermediate in dimethylsulfoniopropionate biosynthesis. *Plant Physiol.*, 108(1 995), 1439–1448.
- Kiene, R. P., & Taylor, B. F. (1988). Demethylation of dimethylsulfoniopropionate and production of thiols in anoxic marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(9), 2208–2212.
- Kiene, R. P., & Bates, T. S. (1990). Biological removal of dimethyl sulphide from sea water. *Nature*, 345(6277), 702–705.
- Kiene, R. P., & Linn, L. J. (2000 B). Distribution and turnover of dissolved DMSP and its relationship with bacterial production and dimethylsulfide in the Gulf of Mexico. *Limnology and Oceanography*, 45(4), 849–861.

- Kiene, R. P., Linn, L. J., & Bruton, J. A. (2000). New and important roles for DMSP in marine microbial communities. *Journal of Sea Research*, 43(3–4), 209–224.
- Kinsey, J. D., Kieber, D. J., & Neale, P. J. (2015). Effects of iron limitation and UV radiation on *Phaeocystis antarctica* growth and dimethylsulfoniopropionate, dimethylsulfoxide and acrylate concentrations. *Environmental Chemistry*, 195–211.
- Kocsis, M. G., Nolte, K. D., Rhodes, D., Shen, T. L., Gage, D. A., & Hanson, A. D. (1998). Dimethylsulfoniopropionate Biosynthesis in *Spartina alterniflora* 1 Evidence That S-Methylmethionine and Dimethylsulfoniopropylamine Are Intermediates. *Plant physiology*, 117(1), 273–281.
- Kowalewsky, S., Dambach, M., Mauck, B., & Dehnhardt, G. (2006). High olfactory sensitivity for dimethyl sulphide in harbour seals. *Biology Letters*, 2(1), 106–109.
- Kwint, R. L., & Kramer, K. J. (1995). Dimethylsulphide production by plankton communities. *Marine Ecology Progress Series*, 121(1–3), 227–238.
- Lana, A., Bell, T. G., Simó, R., Vallina, S. M., Ballabrera-Poy, J., Kettle, A. J., ... Liss, P. S. (2011). An updated climatology of surface dimethylsulfide concentrations and emission fluxes in the global ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 25(1), 1–17.
- Lancelot, C., Wassmann, P., & Barth, H. (1992). *Phaeocystis*-dominated ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, 24(1), 56–57.
- Lee, P. A., De Mora, S. J., Gosselin, M., Levasseur, M., Bouillon, R. C., Nozais, C., & Michel, C. (2001). Particulate dimethylsulfoxide in Arctic sea-ice algal communities: The cryoprotectant hypothesis revisited. *Journal of Phycology*, 37(4), 488–499.
- Lyon, B. R., Lee, P. A., Bennett, J. M., DiTullio, G. R., & Janech, M. G. (2011). Proteomic Analysis of a Sea-Ice Diatom: Salinity Acclimation Provides New Insight into the Dimethylsulfoniopropionate Production Pathway. *Plant Physiology*, 157(4), 1926–1941.
- Malin, G., Kiene, R. P., Gisscher, P. T., Keller, M. D., & Kirst, G. O. (1996). Biological and environmental chemistry of DMSP and related sulfonium compound. *The Role of DMSP in the Global Sulfur Cycle and Climate Regulation*, 177–189.
- Malin, G., Wilson, W. H., Bratbak, G., Liss, P. S., & Mann, N. H. (1998). Elevated production of dimethylsulfide resulting from viral infection of cultures of *Phaeocystis pouchetii*. *Limnology and Oceanography*, 43(6), 1389–1393.
- Martin, R. A. (2007). A review of behavioural ecology of whale sharks (*Rhincodon typus*). *Fisheries Research*, 84(1), 10–16

- Matrai, P. A., & Keller, M. D. (1994). Total organic sulfur and dimethylsulfoniopropionate in marine phytoplankton: intracellular variations. *Marine Biology*, *119*(1), 61–68.
- Mohapatra, B. R., Rellinger, A. N., Kieber, D. J., & Kiene, R. P. (2014). Kinetics of DMSP lyases in whole cell extracts of four *Phaeocystis* species: Response to temperature and DMSP analogs. *Journal of Sea Research*, *86*, 110–115.
- Nevitt, G. A. (2000). Olfactory foraging by antarctic procellariiform seabirds: Life at high Reynolds numbers. *Biological Bulletin*, *198*(2), 245–253.
- Nevitt, G. A. (2008). Sensory ecology on the high seas: the odor world of the procellariiform seabirds. *Journal of Experimental Biology*, *211*(11), 1706–1713.
- Peperzak, L., Colijn, F., Vrieling, E. G., Gieskes, W. W. C., & Peeters, J. C. H. (2000). Observations of flagellates in colonies of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae); a hypothesis for their position in the life cycle. *Journal of Plankton Research*, *22*(12), 2181–2203.
- Quinn, P. K., & Bates, T. S. (2011). The case against climate regulation via oceanic phytoplankton sulphur emissions. *Nature*, *480*(7375), 51–56.
- Raven, J. A., Evans, M. C., & Korb, R. E. (1999). The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O<sub>2</sub>-evolving organisms. *Photosynthesis Research*, *60*(2–3), 111–150.
- Rousseau, V., Chrétiennot-Dinet, M. J., Jacobsen, A., Verity, P., & Whipple, S. (2007). The life cycle of *Phaeocystis*: state of knowledge and presumptive role in ecology. *Biogeochemistry*, *83*(1–3), 29–47.
- Seymour, J. R., Simó, R., Ahmed, T., & Stocker, R. (2010). Chemoattraction to dimethylsulfoniopropionate throughout the marine microbial food web. *Science*, *329*(5989), 342–345.
- Schoemann, V., Becquevort, S., Stefels, J., Rousseau, V., & Lancelot, C. (2005). *Phaeocystis* blooms in the global ocean and their controlling mechanisms: a review. *Journal of Sea Research*, *53*(1), 43–66.
- Smith, R. C., Prezelin, B. B., Baker, K. E. A., Bidigare, R. R., Boucher, N. P., Coley, T., ... & Menzies, D. (1992). Ozone depletion: ultraviolet radiation and phytoplankton biology in Antarctic waters. *Science*, *255*(5047), 952–959.
- Sunda, W., Kieber, D. J., Kiene, R. P., & Huntsman, S. (2002). An antioxidant function for DMSP and DMS in marine algae. *Nature*, *418*(6895), 317–20.

- Toole, D. A., Kieber, D. J., Kiene, R. P., Siegel, D. A., Norman, B., May, N., & Nelson, N. B. (2003). Photolysis and the dimethylsulfide (DMS) summer paradox in the sargasso sea, *48*(3), 1088–1100.
- van Bergeijk, S. A., & Stal, L. J. (2001). Dimethylsulfoniopropionate and dimethylsulfide in the marine flatworm *Convoluta roscoffensis* and its algal symbiont. *Marine Biology*, *138*(1), 209–216.
- van Leeuwe, M. A., & Stefels, J. (1998). Effects of iron and light stress on the biochemical composition of Antarctic *Phaeocystis* sp.(Prymnesiophyceae). II. Pigment composition. *Journal of Phycology*, *34*(3), 496–503.
- van Rijssel, M., Hamm, C., & Gieskes, W. (1997). *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) colonies: hollow structures built with small amounts of polysaccharides. *European Journal of Phycology*, *32*(2), 185–192.
- Vaulot, D., Birrien, J. L., Marie, D., Casotti, R., Veldhuis, M. J., Kraay, G. W., & Chrétiennot-Dinet, M. J. (1994). Morphology, ploidy, pigment composition, and genome size of cultured strains of *phaeocystis* (prymnesiophyceae). *Journal of Phycology*, *30*(6), 1022–1035.
- Verity, P. G., & Medlin, L. K. (2003). Observations on colony formation by the cosmopolitan phytoplankton genus *Phaeocystis*. *Journal of Marine Systems*, *43*(3–4), 153–164.
- Vila-Costa, M., Rinta-Kanto, J. M., Poretsky, R. S., Sun, S., Kiene, R. P., & Moran, M. A. (2014). Microbial controls on DMSP degradation and DMS formation in the Sargasso Sea. *Biogeochemistry*, *120*(1–3), 295–305.
- Whipple, S. J., Patten, B. C., & Verity, P. G. (2005). Life cycle of the marine alga *Phaeocystis*: A conceptual model to summarize literature and guide research. *Journal of Marine Systems*, *57*(1–2), 83–110.
- Wolfe, G. V., Steinke, M., & Kirst, G. O. (1997). Grazing-activated chemical defence in a unicellular marine alga. *Nature*, *387*(6636), 894–897.
- Yoch, D. C., Ansedé, J. H., & Rabinowitz, K. S. (1997). Evidence for Intracellular and Extracellular Dimethylsulfoniopropionate (DMSP) Lyases and DMSP Uptake Sites in Two Species of Marine Bacteria. *Applied and environmental microbiology*, *63*(8), 3182–3188.
- Yoch, D. C. (2002). Dimethylsulfoniopropionate: its sources, role in the marine food web, and biological degradation to dimethylsulfide. *Applied and Environmental Microbiology*, *68*(12), 5804–5815.