

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski studij biologije

Stefani Kukić

BIOLUMINISCENCIJA ALGA

Završni rad

Mentor: Doc. dr. sc. Filip Stević

Osijek, 2015.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku Odjel za biologiju

Završni rad

Preddiplomski studij biologije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

BIOLUMINISCENCIJA ALGA

Stefani Kukić

Rad je izrađen na Zavodu za ekologiju voda Odjela za biologiju

Mentor: Doc. dr.sc. Filip Stević

Sažetak: Bioluminiscencija je široko rasprostranjena pojava koja prvenstveno dominira morskim ekološkim sustavom. Ovu pojavu karakterizira produkcija i emisija svjetlosti iz živućeg organizma kao rezultat specifičnog biokemijskog mehanizma koji uključuje kaskadu kemijskih reakcija, specifičnu za pojedinu vrstu organizma. Krajnji rezultat je produkcija svjetlosti vidljive golim okom. Velik dio bioluminiscencije u moru nastaje zbog emisije svjetlosti fitoplanktonskih dinoflagelata. Topliji dijelovi mora i izolirani zaljevi omogućuju intenzivni rast ovih organizama, a njihova visoka koncentracija te uzburkana morska površina rezultiraju pojavom tzv. „plave svjetlosti“.

Broj stranica: 15

Broj slika: 7

Broj literaturnih navoda: 26

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: bioluminiscencija, morski ekološki sustav, produkcija svjetlosti, emisija svjetlosti, kemijske reakcije, vidljiva svjetlost, dinoflagelati

Rad je pohranjen u: knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku, te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek Department of Biology

Bachelor's thesis

Undergraduate studies in Biology

Scientific Area: Natural science

Scientific Field: Biology

ALGAE BIOLUMINESCENCE

Stefani Kukić

Thesis performed at Subdepartment of Water Ecology

Supervisor: Filip Stević, Assistant Professor

Abstract: Bioluminescence is widely distributed phenomenon that primarily dominates over marine ecosystem. This phenomenon is characterized by light production and emission that occurs inside the living organism resulting from a specific biochemical mechanism involving a cascade of chemical reactions, often specific for that organism. Furthermost result is production of visible light. Much of the bioluminescence of the sea is due to light emission of dinoflagellates. Warmer parts of the sea and isolated bays allow intense growth of these organisms so their higher concentration along disturbed sea surface result in appearance of blue light.

Number of pages: 15

Number of figures: 7

Number of references: 26

Original in: Croatian

Keywords: bioluminescence, marine ecosystem, light production, light emission, chemical reactions, visible light, dinoflagellates

Thesis deposited in: Library of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek and in National university library in Zagreb in electronic form. It is also available on the web site of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

SADRŽAJ

1. Uvod	1
1.1. Povijest	1
1.2. Fluorescencija i bioluminiscencija	1
2. Osnovni dio	4
2.1. Produkcija svjetlosti - stanična perspektiva	4
2.2. Produkcija svjetlosti - molekularna perspektiva	5
2.3. Bioluminiscencija roda <i>Dinoflagellates</i>	6
2.4. Kontrola bioluminiscencije - cirkadijalni sat i fotoinhibicija	9
2.5. „Bioluminescent Bay“	10
3. Zaključak	11
4. Literatura	12

1. Uvod

1.1. Povijest

Luminiscentne i fosforescentne karakteristike organizama prvi su opisali Rimljani i Grci. Aristotel (384. - 322. godine prije Krista) je opisao 180 morskih vrsta kod kojih je prepoznao „plavu svjetlost“. Na svom je putovanju, Charles Darwin naveo zapažanje o zelenim valovima koji svijetle te pretpostavio kako su mnoge pelagijalne životinje nedvojbeno fosforescentne. Kako je tada biokemija bila nerazvijena grana znanosti, ovaj fenomen Darwin je pripisao narušenim električnim svojstvima atmosfere.

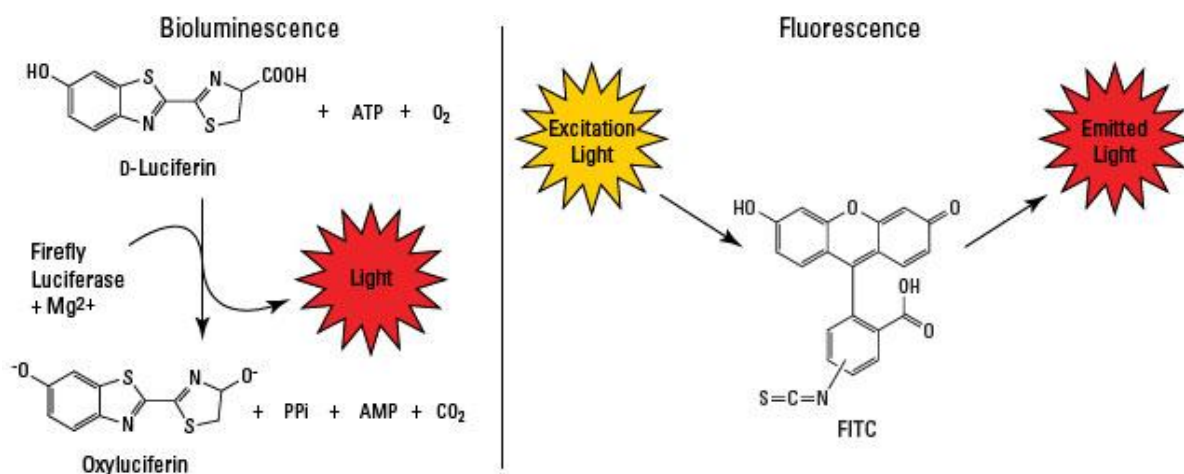
Daleko veće zasluge pripadaju francuskom farmakologu Raphaelu Duboisu krajem 19. stoljeća koji je svojim radom na klišnjacima (*Pyrophorus*) i morskim školjkašima vrste *Pholas dactylus* L. opovrgnuo ideju da bioluminiscencija nastaje iz fosforescencije. Nadalje, zaključio je da je svjetleća pojava povezana s oksidacijom specifičnog spoja kojeg je nazvao luciferin (Poisson i Jacques, 2010).

1.2. Fluorescencija i bioluminiscencija

Mehanizam produkcije svjetlosti kroz kemijske reakcije razlikuje bioluminiscenciju od fluorescencije ili fosforescencije (Slika 1). Fluorescentne molekule ne produciraju svoju vlastitu svjetlost već apsorbiraju fotone koji privremeno pobuđuju elektrone koji tada prelaze iz osnovnog u pobuđeno energetske stanje. Kako se elektroni brzo vraćaju u svoje osnovno stanje, otpuštaju energiju većih valnih duljina. Zbog toga što se pobuđivanje i vraćanje u osnovno energetske stanje odvija obično unutar pikosekunde, fluorescentno svjetlo vidljivo je samo u trenutku kada je uzorak osvijetljen. Najzastupljenije fluorescentne molekule u prirodi su klorofil, fikobiliproteini, zeleni fluorescentni protein (GFP) i FITC.

Pojava fosforescencije odnosi se na emitiranje svjetlosti iz uzorka koji je prethodno bio osvijetljen, no za razliku od fluorescencije, emisija svjetlosti se nastavlja i nakon što se prekine izvor svjetla. Ovakvo „produženo“ emitiranje svjetlosti nastaje uslijed produženog vremena vraćanja elektrona u osnovno energetske stanje nakon što je bio pobuđen i može potrajati nekoliko sekundi ili čak minuta. Fosforescencija je česta pojava u fotosintetskim sustavima.

Iz nekoliko je razloga teško povući granicu između bioluminiscencije i fosforescencije. Prvo, supstance koje su bioluminiscentne također mogu biti i autofluorescentne. Organi specijalizirani za produkciju svjetlosti često mogu biti vizualizirani kroz svoju fluorescenciju pod UV ili kratkovalnim osvjetljenjem. Drugo, fluorescentni emisijski spektar molekule može se podudarati s njenim luminiscencijskim emisijskim spektrom jer iste molekule sudjeluju u procesu pobuđivanja i emisije. Također, i drugi prirodni materijali mogu biti fluorescentni (hitin) pa je potreban poseban oprez prilikom razlikovanja prisutnosti bioluminiscencije od fluorescencije (Stabili i sur., 2008).



Slika 1. Bioluminiscencija (lijevo). Emisija svjetla proizlazi iz reakcije oksidacije luciferina uz katalizu enzima luciferazom (navedena je luciferaza krijesnice). Prisustvo kofaktora ovisi o vrsti luciferaze. Fluorescencija (desno) proizlazi iz apsorpcije svjetlosne energije fluorescentnog kemijskog spoja te emisije svjetlosti različite valne duljine (izvor - web 1).

Pojam bioluminiscencija (grč. *bios* - život, lat. *lumen* - svjetlost) odnosi se na produkciju i emisiju svjetlosti živih organizama kao rezultat otpuštene energije tijekom kemijskih reakcija. Oblik je kemiluminiscencije u kojoj organizmi emitiraju „hladnu“ svjetlost, odnosno onu svjetlost koja ne proizvodi toplinsko zračenje. U većini slučajeva radi se o reakciji oksidacije molekule luciferina pod prisustvom enzima luciferaze ili fotoproteina kojemu je za djelovanje potreban i kofaktor poput iona Ca²⁺ ili Mg²⁺ koji uzrokuju konformacijsku promjenu proteina (Shimomura, 2006). Velika je raznolikost luciferaznih enzima iako je mehanizam proizvodnje svjetla kod svih isti -

reakcijom oksidativne dekarboksilacije luciferaznog supstrata u prisutnosti O₂ pri čemu nastaje emisija fotona. Dok je luciferin evolucijski visoko konzervirana molekula, luciferaze i fotoproteini imaju različita evolucijska podrijetla.

Pojava bioluminiscencije raširen je fenomen u prirodi koji obuhvaća raspon organizama od jednostavnih bakterija i protista do mnogih kralježnjaka i beskralježnjaka koji posjeduju specijalizirane organe za produkciju svjetlosti. Mnogi luminiscentni organizmi žive u simbiozi s bioluminiscentnim bakterijama koje *a priori* proizvode svjetlost. Rijetko se pojavljuje u slatkovodnom ekološkom sustavu, a među kritosjemenjačama i kopnenim kralježnjacima je potpuno odsutna. Iako postoje brojni kopneni luminiscentni organizmi poput raznih insekata, stonoga, puževa i gljiva, bioluminiscencija ipak dominira morskim ekološkim sustavom gdje ima bitnu ulogu u komunikaciji, reprodukciji i odnosima predator-plijen.

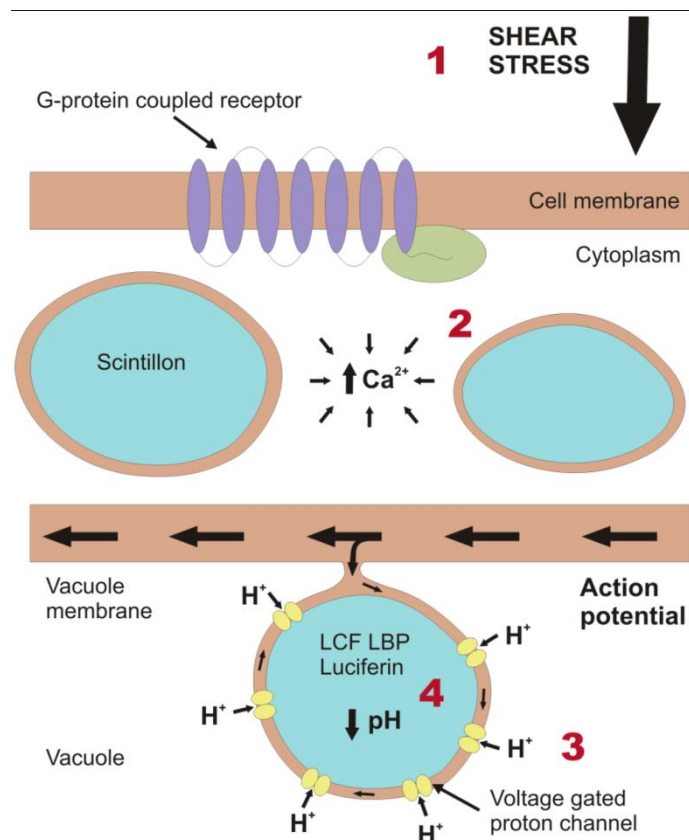
Bioluminiscencija je vrlo učinkovita u komunikaciji između organizama te ovisno o uvjetima, bioluminiscentna svjetlost može se uočiti na desetke i stotine metara (Warrant i Locket, 2004). Čak i jednostanični dinoflagelati promjera 0,5 mm mogu odašiljati signal dug 5 m što je ekvivalentno odašiljanju signala čovjeka visokog 2 m na udaljenost veću od 20 km (Haddock i sur., 2010).

Općenito, bioluminiscencija je svojstvenija planktonskim nego bentoskim organizmima. Najčešći bioluminiscentni organizmi su morski fitoplanktonski organizmi dinoflagelati - eukariotski protisti sposobni za produkciju i emisiju svjetla. Poznato je najmanje 18 luminoznih rodova (Baker i sur., 2008) uključujući *Gonyaulax*, *Noctiluca*, *Protoperdinium* i *Procystis*. Ovi luminiscentni morski organizmi globalno su distribuirani (uključujući brojne kozmopolitske i štetne vrste), a njihova bioinvazija te narušavanje mirne morske površine tijekom noći uzrokuju pojavu plave svjetlosti, odnosno bioluminiscenciju. Neki dinoflagelati posjeduju upečatljive genetske, biokemijske i stanične mehanizme za stvaranje bioluminiscencije (Valiadi i Iglesias-Rodriguez, 2013).

2. Osnovni dio

2.1. Produkcija svjetlosti - stanična perspektiva

Produkcija svjetla događa se u specijaliziranim organelima unutar kojih se nalaze enzim luciferaza (LCF) i njegov supstrat luciferin te u nekih vrsta luciferin vezujući protein (LBP). Takvi organeli se mogu klasificirati kao vezikule promjera $\approx 0,5 - 0,9 \mu\text{m}$ (Nicolas i sur., 1987). Bioluminiscenciji posreduje kaskada staničnih događaja. Kemijska reakcija produkcije svjetla je ovisna o fluktuacijama pH vrijednosti i zahtjeva zakiseljavanje specijaliziranih organela stoga se oni udružuju s vakuolama niže pH vrijednosti. Primarni događaj je podražaj stanične membrane koji pokreće mehanotransdukcijski put u svrhu generiranja akcijskog potencijala preko membrane vakuole s udruženim specijaliziranim organelima. Kaskada uključuje aktivaciju receptora posredovanog GTP-vezujućim proteinima (Chen i sur., 2007). U kojem stadiju kaskade su ovi receptori aktivirani, još je uvijek nepoznanica. Eksperimenti von Dassowa i Latza (von Dassow i Latz, 2002) pokazali su da je sljedeći korak nakon mehaničke disturbancije, povećanje koncentracije unutarstaničnog Ca^{2+} . Akcijski potencijal izazvan ovim događajima vodi ka influksu protona iz acidozne vakuole u specijalizirane organele, snižavajući njihovu pH vrijednost od ≈ 8 do ≈ 6 (Fogel i Hastings, 1972) (Slika 2). Promjene u pH vrijednosti uzrokuju konformacijske promjene luciferaze u aktivno stanje (Schultz i sur., 2005). Luciferaza katalizira reakciju oksidacije luciferina u oksiluciferin što rezultira emisijom fotona (Shimomura, 2006; Wilson i Hastings, 2013) u vidu plavog svjetla valne duljine oko 475 nm.



Slika 2. Shematski prikaz stanice dinoflagelata koji sudjeluje u nastanku bioluminiscencije. 1) sila koja je izvršena na vanjsku membranu stanice potiče transdukciju koja uključuje aktivaciju receptora povezanih s G-proteinima. Signal koji pristiže na membranu stanice mehanički je signal stoga ga je nužno prevesti u električni signal na membrani vakuole. 2) Prevođenje mehaničkog u električni signal je postignuto povećanjem koncentracije Ca^{2+} u citoplazmi što za posljedicu ima depolarizaciju membrane vakuole te generiranja akcijskog potencijala. 3) Akcijski potencijal aktivira kanale ovisne o naponu koji su koncentrirani na membranama specijaliziranih organela. 4) Krajnji rezultat je influks protona iz acidozne vakuole čemu slijedi povećano snižavanje pH specijaliziranih organela i aktivira kemijske reakcije bioluminiscencije (izvor - Valiadi i Iglesias-Rodriguez, 2013).

2.2. Produkcija svjetlosti - molekularna perspektiva

Dinoflagelatni luciferazni gen (*lcf*) prvi je put izoliran iz vrste *Lingulodinium polyedrum*, Dodge (Li i sur., 1997) te kasnije pronađen u 6 drugih vrsta (Liu i sur., 2004). Sastavljen je od tri ponavljajuće domene (D1, D2 i D3 domene) od kojih svaka

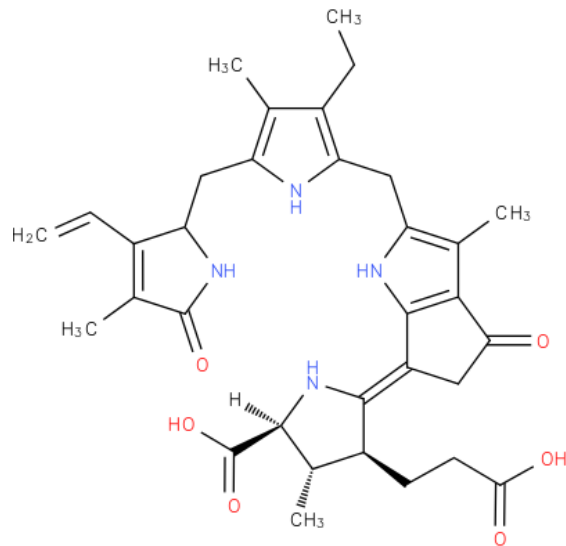
sadrži središnju regiju čiji je aminokiselinski slijed visoko konzerviran i kodira katalitički aktivno mjesto. Ova središnja regija okružena je varijabilnim N- i C-terminalnim krajevima čija je uloga kontrola odgovora pri promjeni u pH vrijednostima, a također kontrolira i aktivnost enzima (Suzuki-Ogoh i sur., 2008; Li i sur., 2001). U odgovoru na promjenu u pH vrijednostima, četiri histidinska ostatka na N-terminalnom dijelu svake domene induciraju konformacijske promjene koje izlažu prethodno smotana katalitička mjesta (Schultz i sur., 2005; Li i sur., 2001).

Lcf je potpuno sekvenciran u sedam srodnih fotosintetskih rodova reda *Gonyaulacales*: *Alexandrium*, *Lingulodinium*, *Protoceratium* i *Procytis* (Liu i sur., 2004) i jedne heterotrofne vrste *Noctiluca scintillans* Macartney (Liu i Hastings, 2007).

Luciferin-vezujući protein ima važnu ulogu vezanja luciferina pri neutralnoj pH vrijednosti. Ovaj protein nije dovoljno istražen iz razloga što nije pronađen u svim bioluminiscentnim dinoflagelatima stoga nije esencijalan za mehanizam bioluminiscencije. Također, mehanizam kojim veže luciferin te njegova sama fizikalna struktura još su gotovo nepoznati.

2.3. Bioluminiscencija reda *Dinoflagellates*

Molekula luciferina tetrapiroalne je strukture (Slika 3), slična molekuli kolorofila s razlikom u prisutnim metalnim ionima (Dunlap i sur., 1981; Nakamura i sur., 1989; Takeuchi i sur., 2005). Kod dinoflagelata, enzim luciferaza prvi je put izoliran i kloniran iz vrste *L. polyedrum* (Bae i Hastings, 1994). Enzim je sadržavao tri ponavljajuće katalitičke domene, od kojih je svaka bila funkcionalna (Liu i sur., 2004).

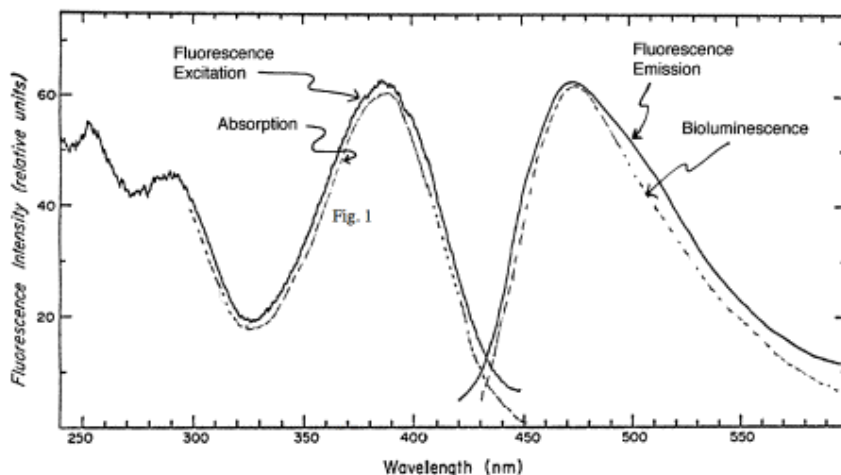


Slika 3. Tetrapiolna struktura molekule luciferina kod dinoflagelata (izvor - web 2)

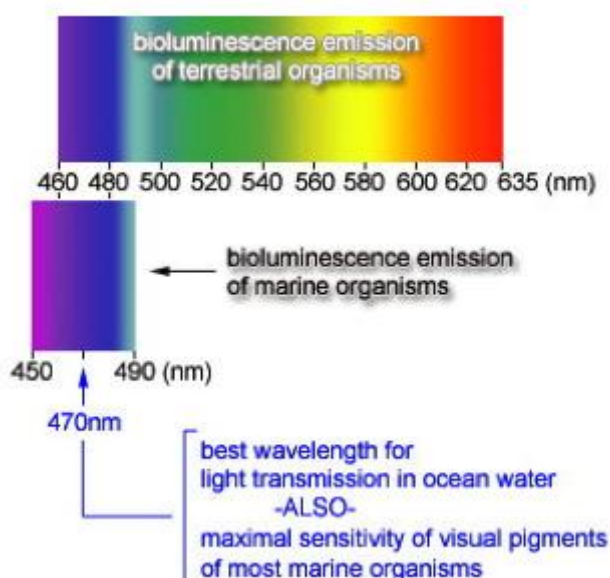
Tri su čimbenika koji potiču bioluminiscenciju kod dinoflagelata:

1. mehanička stimulacija: fizički stresor koji inducira deformaciju stanične membrane i uzrokuje kratak bljesak u trajanju od 1/100 sekunde u kojem se proizvede 10^8 fotona.
2. kemijska stimulacija: snižavanjem pH vrijednosti te
3. temperaturne promjene

Apsorpcijski maksimum luciferina je na 390 nm, a fluorescentni maksimum na 470 nm valne duljine što se preklapa s njegovim bioluminiscentnim spektrom (Slika 4). Emisija svjetlosti nastaje na dva različita načina, bljeskom koji je vidljiv golim okom, a sastoji se u kratkotrajnoj (0,1 s) eksploziji svjetlosti i sjaju niskog intenziteta koji nije vidljiv golim okom. Krajnji produkt bioluminiscencije je plavo-zelena svjetlost vidljiva golim okom zajednička za većinu morskih bioluminiscentnih organizama (Slika 5).



Slika 4. Apsorpcijski, fluorescentni i bioluminiscentni spektar molekule luciferina (izvor - web 3)



Slika 5. Usporedba emitirane svjetlosti kod kopnenih i vodenih bioluminiscentnih organizama (izvor - web 4)

Bioluminiscencija dinoflagelata najvjerojatnije je obrambeni mehanizam protiv predatora (Marcinko i sur., 2013). Ovu teoriju su Esaias i Curl te White (Esaias i sur., 1972; White, 1979) eksperimentalno dokazali kroz interakciju bioluminiscentnih dinoflagelata sa zooplanktonskim veslonošcima. Rezultati su pokazali da što je intenzivnija bioluminiscencija vrste *Gonyaulax* sp., manje ih je konzumirano od strane veslonožaca rodova *Acartia* i *Calanus*. Fotofobni odgovori morskog zooplanktona na

bioluminiscentno svjetlo sugeriraju da bioluminiscencija ima odlučujuću ulogu u evolucijskoj prednosti dinoflagelata kroz indirektnu redukciju predacije.

2.4. Kontrola bioluminiscencije - cirkadijalni sat i fotoinhibicija

Većina bioluminiscentnih dinoflagelata pokazuje dnevni ritam u intenzitetu bioluminiscencije s mnogo većim intenzitetom tijekom noći nego tijekom dana. Dva glavna mehanizma koja podliježu ovim dnevnim varijacijama reguliraju bioluminiscenciju na staničnoj i molekularnoj razini pomoću cirkadijalnog sata i/ili fotoinhibicije preko dana (Valiadi i Iglesias-Rodriguez, 2013). U fotosintetskih dinoflagelata, bioluminiscencija podliježe dnevnom ritmu kojeg kontrolira endogeni cirkadijalni sat što čini bioluminiscenciju gotovo neprimjetnom tijekom dana, a intenzivnom tijekom noći.

Cirkadijalni ritam bioluminiscencije najistraženiji je u dvije vrste, *L. polyedrum* i *Pyrocystis lunula*, Schütt (Hastings, 2007). Kod vrste *L. polyedrum* luciferin, luciferaza i luciferin vezujući protein kao i specijalizirani organeli u kojima se ovi proteini nalaze bivaju kontinuirano uništavani u zoru i ponovo resintetizirani u sumrak. S druge strane *P. lunula* regulira bioluminiscenciju na potpuno drugačiji način. Broj proteina uključenih u mehanizam bioluminiscencije kao i sami organeli u kojima ti proteini nastaju, bivaju konstantni i tijekom dana i tijekom noći. Umjesto uništavanja, organeli s proteinima bivaju naizmjenično premješteni zajedno s kloroplastima u svrhu prilagođavanja intenziteta bioluminiscencije, smještajući se uz periferiju stanice tijekom noći te vraćajući se natrag u središte stanice tijekom dana zbog sprječavanja njihove stimulacije.

Osim cirkadijalnog ritma, smanjenje danjeg intenziteta bioluminiscencije uzrokuje pojava fotoinhibicije koja je dokumentirana kod fotosintetskih i heterotrofnih dinoflagelata (Esaias i sur., 1973; Buskey i sur., 1992). Većina bioluminiscentnih vrsta osjetljiva je na plavo svjetlo što smanjuje njihovu osjetljivost na mehaničku stimulaciju neovisno o sadržaju luciferina i luciferaze u stanici (Esaias i sur., 1973; Li i sur., 1996). Mehanizam inhibicije svjetla još je nepoznat no smatra se bitnom evolucijskom adaptacijom na smanjenje utroška energije pri vidljivom svjetlu. Kod bioluminiscentnih flagelata fotoinhibicija dominira nad cirkadijalnim ritom jer mnoge

heterotrofne vrste poput vrste *Protoperdinium* sp. ne pokazuju cirkadijalne ritmove u regulaciji bioluminiscencije već se kontrola vrši fotoinhibicijom (Buskey i sur., 1992). Također, fotoinhibicija se smatra ekološki bitnijom kontrolom jer su u prirodi populacije dinoflagelata izložene dnevno-noćnim ciklusima u eufotičkoj zoni.

2.5. „Bioluminescent Bay“

Bioluminescent Bay, također poznat i pod nazivom „The Bio Bay“ sinonim je za dva zaljeva, Salt River (Slike 6 i 7) i Altona Lagoon, locirana na St. Croix otoku, poznatima po intenzivnoj koncentraciji bioluminiscentne fitoplanktonske vrste *Pyrodinium bahamense*, Plate. Kombinacijom nekoliko čimbenika ostvaruju se povoljni uvjeti za razvoj ove bioluminiscentne vrste, a najvažnijim čimbenikom smatra se prisutnost crvene mangrove šume koja okružuje zaljev.



Slika 6. Zaljev Salt River, St. Croix (izvor - web 5)



Slika 7. Zaljev Salt River, St. Croix (izvor - web 6)

Zaključak

Bioluminiscencija sa svojim značajnim vizualnim, ekološkim i staničnim učincima ima veliku ulogu u životnom ciklusu mnogih dinoflagelata, kao i ostalih bioluminiscentnih organizama.

Kod dinoflagelata, produkcija i emisija svjetlosti nadzirana je kemijskim i molekularnim mehanizmima unutar stanice. Kontrolu nad emisijom svjetla započinje stresor koji deformira membranu, a uključuje seriju kaskada koje uključuju aktivnost G-proteinskih receptora, prisutnost kalcijevih iona i protona koji potiču otpuštanje luciferina sa svojeg vezujućeg proteina. Luminiscencija dinoflagelata, kao i drugih organizama može se povezati s cirkadijalnim ritmom u kojem luciferin biva oksidiran i vraćen u svoje osnovno stanje unutar ciklusa dan/noć.

Dosad je postignut veliki napredak u razumijevanju bioluminiscentnih procesa glede staničnih mehanizama, cirkadijalnog ritma i molekularne evolucije kod dinoflagelata no s obzirom da je funkcija bioluminiscencije još uvijek nedovoljno istražena, postavljaju se brojna pitanja vezana uz ovaj prirodni fenomen. Dok su geni za mnoge luciferaze već dobro poznati, mehanizmi biosinteze luciferina su gotovo potpuno neistraženi.

S obzirom da je distribucija bioluminiscentnih organizama koristan parametar u razumijevanju ekologije oceana, napredak u metodama detektiranja bioluminiscencije u oceanu putem satelita i drugih sredstava omogućiti će bolje razumijevanje dinamike ekološkog sustava mora, cvjetanje mora te kako i zašto populacije fitoplanktona periodično fluktuiraju.

Literatura

Bae Y, Hastings J. 1994. Cloning, sequencing and expression of dinoflagellate luciferase DNA from a marine alga. *Gonyaulax polyedra*. *Biochim. Biophys. Acta Gene Struct. Expr* 1219: 449–456.

Baker A, Robbins I, Moline MA, Iglesias-Rodriguez MD. 2008. Oligonucleotide primers for the detection of bioluminescent dinoflagellates reveal novel luciferase sequences and information on the molecular evolution of this gene. *J. Phycol.* 44:419–28.

Buskey E.J, Strom S, Coulter C. 1992. Bioluminescence of heterotrophic dinoflagellates from Texas coastal waters. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 159: 37–49.

Chen AK, Latz MI, Sobolewski P, Frangos JA. 2007. Evidence for the role of G-proteins in flow stimulation of dinoflagellate bioluminescence. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 292:R2020–27.

Darwin C. 1909. *The Voyage of the Beagle*. New York: Collier. 524 pp.

Esaias W.E, Curl H.C. 1972. Effect of dinoflagellate bioluminescence on copepod ingestion rates. *Limnol. Oceanogr.* 17, 901–905.

Esaias W.E, Curl H.C, Seliger H.H. 1973. Action spectrum for a low intensity, rapid photoinhibition of mechanically stimuable bioluminescence in the marine dinoflagellates *Gonyaulax catenella*, *G. acatenella*, and *G. tamarensis*. *J. Cell. Physiol.* 82, 363–372.

Fogel M, Hastings J.W. 1972. Bioluminescence- Mechanism and mode of control of scintillon activity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 69, 690–693.

Harvey E.N. 1957. *A history of luminescence from the earliest times until 1900*. Vol. 44. The American Philosophical Society, Philadelphia

Hastings J.W. 2007. The *Gonyaulax* clock at 50: Translational control of circadian expression. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 72, 141–144.

Li L, Hong R, Hastings J.W. 1997. Three functional luciferase domains in a single polypeptide chain. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94, 8954–8958.

Li L, Liu L, Hong R, Robertson D, Hastings J.W. 2001. N-terminal intramolecularly conserved histidines of three domains in *Gonyaulax* luciferase are responsible for loss of activity in the alkaline region. *Biochemistry* 40, 1844–1849.

Li Y.Q, Swift E, Buskey E.J. 1996. Photoinhibition of mechanically stimutable bioluminescence in the heterotrophic dinoflagellate *Protoperdinium depressum* (Pyrrophyta). *J. Phycol.* 32, 974–982.

Liu L.Y, Wilson T, Hastings J.W. 2004. Molecular evolution of dinoflagellate luciferases, enzymes with three catalytic domains in a single polypeptide. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 16555–16560.

Marcinko C.L.J, Painter S.C, Martin A.P, Allen J.T. 2013. A review of the measurement and modelling of dinoflagellate bioluminescence. *Prog. Oceanogr.* 109, 117–129

Nicolas M.T, Sweeney B.M, Hastings J.W. 1987. The ultrastructural localization of luciferase in three bioluminescent dinoflagellates, two species of *Pyrocystis*, and *Noctiluca*, using anti-luciferase and immunogold labeling. *J. Cell Sci.* 87, 189-196.

Poisson J. 2010. "Raphaël Dubois, from pharmacy to bioluminescence". *Rev Hist Pharm.* 58 (365): 51–56.

Schultz L.W, Liu L, Cegielski M, Hastings J.W. 2005. Crystal structure of a pH-regulated luciferase catalyzing the bioluminescent oxidation of an open tetrapyrrole. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 1378–1383.

Shimomura, O. 2006. *Bioluminescence: Chemical Principles and Methods*; World Scientific: Singapore, p. 470.

Stabili L, Gravili C, Tredici SM, Piraino S, Tal`a A, et al. 2008. Epibiotic *Vibrio* luminous bacteria isolated from some hydrozoa and bryozoa species. *Microb. Ecol.* 56:625–36

Suzuki-Ogoh C, Wu C, Ohmiya Y. 2008. C-terminal region of the active domain enhances enzymatic activity in dinoflagellate luciferase. *Photochem. Photobiol. Sci.* 7, 208–211.

Valiadi M. and Iglesias-Rodriguez D. 2013. A review of Understanding Bioluminescence in Dinoflagellates — How Far Have We Come. *Microorganisms*, 3-25

Von Dassow P, Latz MI. 2002. The role of Ca²⁺ in stimulated bioluminescence of the dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum*. *J. Exp. Biol.* 205:2971–86

Warrant E, Locket NA. 2004. Vision in the deep sea. *Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc.* 79:671–712

White H.H. 1979. Effects of dinoflagellate bioluminescence on the ingestion rates of herbivorous zooplankton. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 36, 217–224.

Wilson T, Hastings J. 2013. *Bioluminescence: Living Lights, Lights for Living*; Harvard University Press: Cambridge, MA, USA, p. 185.

Web izvori:

Web 1: <https://www.thermofisher.com/hr/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/luciferase-reporters.html> –preuzeto 8. rujna 2015. godine

Web 2: <http://www.ebi.ac.uk/chebi/chebiOntology.do?chebield=CHEBI:61702> --preuzeto 8. rujna 2015. godine

Web 3: <http://www.photobiology.info/Hastings.html> –preuzeto 8. rujna 2015. godine

Web 4: <http://www.photobiology.info/LeeBasicBiolum.html> –preuzeto 13. rujna 2015. godine

Web 5: http://seathrukayaksvi.com/Bio_Bay/stcroixbioluminescentbay.html –preuzeto 13. rujna 2015. godine

Web 6: <http://www.ecology.com/2014/05/20/salt-river-bay-magic-history-impending-peril-tropical-paradise/> –preuzeto 20. rujna 2015. godine