ABSTRAKT

Lipidy jsou základní biomolekuly, které se vyskytují ve všech organismech. Mají nezastupitelnou funkci jako strukturální molekuly tvořící buněčné membrány a v podobě tuků a olejů je také ukládána zásobní energie. Lipidů je obrovské množství typů, které mají další funkce například v buněčné signalizaci, podpoře enzymů, ochraně vůči stresům a jiné. Mikroskopické řasy jsou hlavními primárními producenty ve sladkovodních i mořských ekosystémech. Řasová biosyntéza má tedy zásadní vliv na trofické sítě vodních ekosystémů a konečném důsledku i na člověka. Prostředí ovlivňuje ekofyziologii řas, což se projevuje v jejich biochemickém složení, tedy i ve složení jejich lipidů. Tato práce je zaměřena na dvě skupiny lipidů a to glycerolipidy, které se skládají z mastných kyselin, a karotenoidy, což jsou fotosyntetické pigmenty s antioxidačními a fotoprotektivními vlastnostmi. V těchto skupinách lipidů byly dále vybrány cílové látky, a to polynenasycené mastné kyseliny a karotenoid fukoxantin patřící mezi xantofyly. Tyto látky mají význam nejen v ekofyziologii řas, ale jsou to cenné látky, které mají pozitivní účinky na lidský organismus a pomocí optimalizované kultivace by mohly být za určitých podmínek získávány z řas pro průmyslové účely.

Přestože je této problematice dlouhodobě věnována velká pozornost, stále existuje mnoho mezer v našich znalostech, z nichž některé se snaží vyplnit tato doktorská práce. Jejím jádrem je sedm přiložených vědeckých publikací a také několik výstupů z aplikovaného výzkumu. Práce se zabývá různými druhy i skupinami řas s různým původem a ekologií. Jednotícím prvkem je kromě vybraných cílových látek také metodický přístup, tedy provádění rozsáhlých manipulativních multi-parametických experimentů. Tímto způsobem je možné izolovaně sledovat vliv jednotlivých biologických faktorů (geografický původ nebo taxonomická příslušnost) nebo abiotických faktorů (teplota, intenzita osvětlení nebo složení kultivačního média) na ekofyziologii vybraných kmenů řas projevující se na úrovni vybraných cílových látek.

Největší pozornost byla věnována sladkovodní bičíkaté řase *Hibberdia magna* (Chrysophyceae), u které jsme podrobně sledovali její reakce na teplotu a osvětlení s ohledem na produktivitu biomasy a vybraných cenných látek. Produktivita fukoxantinu byla optimální v jiných podmínkách než byla optimální produktivita biomasy a polynenasycených mastných kyselin. Tato práce představuje první vhled do biotechnologického potenciálu tohoto málo prozkoumaného druhu, který může sloužit jako modelový organismus pro budoucí studie fotoautotrofních zlativek.

V další studii jsme řasu *Hibberdia magna* srovnávali s druhem *Chlorochromonas danica*, který patří do stejné třídy, ale liší se trofickou strategií (mixotrofie). Přítomnost světla stimulovala zvýšenou produktivitu fukoxantinu, jehož obsah byl ve tmě minimální. Oba druhy měly v optimálních podmínkách podobnou produktivitu fukoxantinu, která byla srovnatelná s jinými fukoxantin produkujícími kmeny. Oba organismy byly pozitivně hodnoceny z hlediska biorafinace mikrořasové biomasy s obsahem většího množství cenných látek.

Ve třetí práci jsme se zabývali sladkovodními rozsivkami, což je další skupina, která není z hlediska manipulativních kultivačních experimentů a složení lipidů tolik známá. Na základě inkubace 11 nově vyizolovaných kmenů z různých klimatických zón (tropické, temperátní, polární) v různých teplotách jsme zjistili průkazné trendy projevující se v profilech jejich mastných kyselin. Srovnatelný vliv jako teplota kultivace měl překvapivě geografický původ kmenů, podobně významná byla též taxonomická příslušnost.. Nejvíce citlivé na změny teploty byly polární kmeny, které se také vyznačovaly největším průměrným podílem polynenasycených mastných kyselin ve srovnání s temperátními a tropickými kmeny.

V další práci jsme testovali antarktický kmen zelené řasy z rodu *Monoraphidium* pro produkci polynenasycených mastných kyselin v poloprovozním měřítku. Z hlediska celoročního využití kultivačních kapacit v mírném pásu může být kultivace psychrotolerantních kmenů výhodná. Testovaný kmen byl vyizolován ze zamrzlého jezera a kromě posunutého optima růstu do oblasti nízkých teplot se vyznačoval též nízkými nároky na světlo a zvýšeným obsahem polynenasycených mastných kyselin oproti jiným zástupců tohoto rodu. Kultivace na tenkovrstvé plošině v zimním období prokázala, že je tento kmen perspektivní.

Dalšími studovanými organismy z hlediska vlivu podmínek na složení lipidů bylo pět kmenů ze skupiny Haptophyta. Pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s reverzní fází (NARP-HPLC) s chemickou ionizací za atmosférického tlaku (APCI) jsme popsali složení jejich triacylgycerolů při různých úrovních salinity s důrazem na polynenasycené mastné kyseliny s 18-ti uhlíkovým řetězcem. Salinita měla vliv na podíl nasycených a nenasycených mastných kyselin a také jejich složení z hlediska regioizomerů.

Další dvě práce se věnovaly metodickým aspektům řasové biotechnologie. Jednalo se o optimalizaci extrakce a purifikace fukoxantinu z biomasy mořské rozsivky *Phaeodactylum tricornutum* pomocí vysokoúčinné protiproudé chromatografie (HPCCC), která prokazatelně zachovala jeho biologické aktivity. Dále jsme se zaměřili na porovnání různých přístupů pro včasnou detekci kontaminace řasových kultur na příkladu kultury rozsivky *Phaeodactylum tricornutum* kontaminované řasou *Chlorella* sp. Jako nejspolehlivější se ukázalo využití metod PCR a qPCR, které odhalily kontaminaci již na úrovni kolem 75 buněk/ml, a jeví se tedy jako nejlepší přístupy pro časné odhalení kontaminací v řasových kultivacích.

V neposlední řadě jsou součástí práce taky výstupy z aplikovaného výzkumu. Prvním z jich je prezentace funkčního prototypu kultivačního zařízení, které bylo vyvinuto v rámci doktorského studia a s jeho pomocí byly prováděny experimenty, které jsou publikovány v rámci hlavních výsledků této práce. Dále jsou prezentovány výstupy z poloprovozních kultivací řas *Hibberdia magna* a *Phaeodactylum tricornutum*, které probíhaly ve spolupráci s českou firmou Algamo s.r.o. Ta se zabývá komerční kultivací mikrořas.