

Posudek na PhD práci: **Pilný, J. (2009): Biofuels from algae: Physiological characterization of candidate diatom species.** - Univ. South Bohemia, Fac. Sci., Dep. Botany, 43pp.

Název práce: Neodpovídá úplně přesně, pojednává prakticky jen o jednom druhu a to *Fistulifera saprophila*. Toto jméno by určitě mělo být v názvu disertace i jistě připravované publikace.

Téma práce: Je velmi aktuální a k problematice algal biofuels již existují spousty prací. Reálné vyhlídky však silně kolísají s aktuální cenou surové ropy, vztah konkrétních vlád k producentům i snahám vymanění se ze závislosti jistě strategické suroviny na cizích státech. f^o


Úvod: Je velmi dobře zpracován, zahrnuje i velmi recentní práce a svědčí o tom, že autor problematiku důkladně prostudoval. První publikace o kultivaci rozsivek publikovali však již Ketchum, B.H. et Redfield, A.C. (1938): A method for maintaining a continuous supply of marine diatoms by culture. - Biol. Bull. 75: 165-169. Vysloveně kultivaci rozsivek pro produkci tuků však publikoval Harder, R. et Witsch, H. (1942): Über Massenkultur von Diatomeen. - Ber. dtsch. Ges. 60: 146-152. Jejich "masová kultura" však byla jen 1 litr, dosáhli ale 4-11% tuků, ve starých kulturách až 50%. Velkoobjemové kultury rozsivky *Navicula* sp. (pravděpodobně tento kmen máme dosud ve sbírce) publikoval Řetovský, R. (1946): Mass cultures of some unicellular algae. - Studia Botanica Čechoslovaca 7: 38-48. Ten již dosáhl úspěšně 50-70 litrových objemů, přisvětloval kultury žárovkami a zářivkami a dosáhl 17-18% tuků v sušině, jeho zájem se ale soustředil spíše na získání krystalického fukoxanthinu.

Metody: Není mi jasné proč vitaminy byly sterilizovány bakteriálním filtrem a ještě mrazeny (str.6). Kvůli sterilizaci? Jelikož autor cituje přesně všechny použité přístroje, měl by uvést i výrobce zkřížených gradientů (Labio Praha, CZ), toto zařízení rozhodně není běžným vybavením.

Výsledky: Odpovídají starším poznatkům a byly získány odpovídající metodikou. Data o optimálních kombinacích teploty a světla jsou zajímavá, ale v opravdu masové venkovní kultuře jsou možnosti jejich regulace minimální. Zde bude možno spíše řídit růst a produkci chemickým složením média pro které autor dává cenné poznatky. Kultivace na deficientních médiích je určitě perspektivou pro další zvýšení koncentrace olejů. Řasy, které nemohou růst (nedostatek N) ani se dělit (nedostatek P, ale i S je nadějná) musí svojí fotosyntetickou produkci neutralizovat ukládáním do tuků, energeticky velmi bohatých. Tím by mohla koncentrace tuků z dosavadních cca 30% být zvýšena na dvojnásobek. To je jistě velmi slibná perspektiva, je však nutno mít na vědomí, že podmínky a růst řas v masové venkovní kultuře jsou vždy odlišné od laboratorních kultur a že bude nutno kultivační protokol doladovat.

Literatura: je velmi bohatá a dobře zpracována. Jen McGinnis je myslím špatně psáno.

Závěr: Práce je dobře navržena, data získána odpovídající metodikou a dobře zpracována. Výsledky jistě obohatí naše znalosti v biotechnologii řas a jsou publikovatelné. Rád doporučuji práci k přijetí a navrhuji známku výborně.


Jaromír Lukavský

Oponentský posudek na diplomovou práci:

Biofuels from algae:

Physiological characterization of candidate diatom species.

Diplomová práce Jana Pilného je zaměřena na experimentální kultivaci drobné rozsivky druhu *Fistulifera saprophila* za účelem jejího praktického využití jako biopaliva. Vhodně zvoleným metodickým přístupem se autorovi podařilo získat cenná data o různých rychlostech růstu a o množství lipidů u studovaného kmene.

Po formální stránce nemám k práci žádné výhrady. Práce je členěna na oddíly odpovídající oddílům vědeckých článků a výsledky jsou doplněny tabulkou, obrázky a grafy. Autor práci sepsal v anglickém jazyce, kterým je schopen se dobře vyjadřovat.

Díky slovnímu a grafickému vyhodnocení získaných výsledků z různých pokusů a srovnání vlastních dat s vědeckými publikacemi nabývá práce na odborné významnosti. Rozšíření výzkumu o další pokusy, které autor plánuje v budoucnu provést, mohou vést k využití získaných poznatků v praxi.

Hodnocení jednotlivých oddílů práce:

V úvodu se autor zabývá rešerší publikací věnujících se významu biopaliva, výhodám a nevýhodám využití fotoautotrofních organismů jako zdroje energie a možným úskalím velkoplošných kultivací.

Monoklonální kultury z přírodních vzorků autor získával dvojitým způsobem izolace, který mu pravděpodobně umožnil získat více kmenů. Experimentální kultivace autor zaměřil na zjištění vlivu koncentrace a formy živin v médiu na růstovou rychlost studovaného kmene a zároveň zda změna vnějších podmínek růst kmene ovlivňuje. V designu pokusu jsou také zahrnuta nezbytná opakování, pro vyšší robustnost výsledků.

Celkem autor izoloval 150 kmenů planktonních rozsivek, z nichž však pouze kolem 40 kmenů se bylo schopno i po měsíci dělit a 10 kultur autor vybral pro zjištění jejich růstové rychlosti. Kultivační podmínky autor pozměňoval podle úspěšnosti kultivace, aby biomasa kmene pokud možno narůstala. Kmen s nejvyšší růstovou rychlostí autor kultivoval v různých podmínkách pro stanovení neoptimálnějších podmínek pro rychlé dělení a tvorbu lipidů. Uvítala bych, kdyby graficky vyhodnocená data v příloze byly součástí textu výsledků.

Některé z metodických postupů, kterými autor reagoval na průběžné výsledky experimentů, mě vedly k zamyšlení o oprávněnosti zvoleného postupu, nicméně v diskuzi autor pokusy objasňuje pomocí srovnávání svých dat s jinými studiemi. Mnohé jevy již byly popsány a autor se věnoval faktorům pozitivně ovlivňující růst rozsivek v kultuře. V diskuzi se autor také věnuje budoucím pokusům pro zvýšení množství lipidů v buňkách studovaného kmene a pro úspěšnost velkoplošné kultivace.

Grafické vyhodnocení dat má určité mezery jen co se týče popisků a pořadí. Srozumitelnost popisků a vysvětlivek grafů je mnohem důležitější, pokud obrázky nenásledují za textem, který na ně odkazuje. Obrázek 1 je matoucí. Barvy nezobrazují biomasu, jak jsem se prvotně domnívala, ale rozmištění hodnot parametru. Obrázek 1 by měl být spíš uveden společně s obrázkem 12, který zobrazuje výsledné váhy sušiny kmene kultivovaném na zkříženém gradientu. Obrázek 3 a 5, by měl být u sebe pro lepší porovnání ovlivnění biomasy stářím kultivace. V obrázku 10 chybí pro každý sloupec vlastní popisek. U druhého sloupečku

obrázku 13 by bylo dobré doplnit i jméno média, protože v této podobě to vypadá, že kmen byl kultivován jen v močovíně.

Dotazy:

Rozsivky se vyskytují v mnoha různých podmínkách prostředí. Proč byly zvoleny právě eutrofní planktonní rozsivky?

Pro detailní studium rychlosti růstu byl vybrán jediný kmen na základě jeho schopnosti rychle se dělit v jednotných kultivačních podmínkách. Je velmi pravděpodobné, že pozměněním kultivačních podmínek by měl vyšší biomasu jiný kmen, který by třeba další experimentální kultivací vykazoval lepší vlastnosti.

Obsah lipidů nebyl studován u všech přeživších čtyřiceti respektive deseti kmenů. Odpovídá množství biomasy množství lipidů v kultuře, nebo mohou kmeny s menším počtem buněk obsahovat celkově větší procento lipidů?

Přírodní vzorky pro izolaci kmenů byly vybrány s ohledem na budoucí velkoplošnou kultivaci ve státě Ohio. Optimální teplotou pro růst zkoumaného kmene byla teplota mezi 25-26°C. Kolik dní v roce dosahuje teplota vzduchu těchto hodnot?

Mohla by izolace více kmenů druhu *Fistulifera saprophila* přinést lepší výsledky vzhledem k možné ekofyziologické nebo molekulární variabilitě různých populací? Budete se ubírat tímto směrem?

Hledání mikroskopických organismů, které mají nadprůměrné vlastnosti vhodné pro velkoplošné kultivace využitelné jako obnovitelný zdroj energie, může končit ve slepé uličce. Diplomová práce Jana Pilného prostřednictvím dobře zvládnuté experimentální kultivace odhaluje variabilitu v růstových rychlostech jediného kmene ovlivněnou podmínkami kultivace. Tento přístup je u diatomologů spíše ojedinělý, jelikož se zabývají téměř výhradně morfologií schránek rozsivek a v současnosti také molekulární diverzitou.

Návrh hodnocení: výborně.

V Praze 20. ledna 2010


Jana Veselá