

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Veronika Kantnerová

**Přehled fylogeneze, systematiky a diverzity rodu *Ulva*
(Ulvophyceae) a biotechnologické využití těchto řas**

Overview of phylogeny, systematics and diversity of the genus *Ulva*
(Ulvophyceae) and biotechnological use of these algae

Bakalářská práce

Školitel: Prof. RNDr. Jiří Neustupa, Ph.D.

Praha, 2019

Poděkování:

Tímto bych chtěla poděkovat svému školiteli Jiřímu Neustupovi za všechnu pomoc při zpracování této práce a za rady a poznámky, které mi velmi pomohly, aby byla moje práce co nejlepší.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 10. 5. 2019

.....

Abstrakt:

Zástupci rodu *Ulva* jsou pozoruhodnou skupinou organismů, zahrnujících velké množství druhů. Patří do třídy Ulvophyceae, jedné z hlavních skupin chlorofytních zelených řas a vyznačují se typickou dvojitou morfologií a haplo-diplontním životním cyklem s izomorfní rodozměnou. Tato práce by měla sloužit jako souhrn dosavadních poznatků o tomto rodu řas, a to s ohledem na jejich fylogenezi, diverzitu a ekologii, která je poměrně zajímavá převážně díky schopnosti těchto řas adaptovat se na široké spektrum abiotických podmínek. Také se zaměřuje na vývoj morfologie stélek těchto řas a to i v souvislosti se zajímavou a velmi důležitou rolí symbiotických bakterií při tomto ději a v neposlední řadě také na biotechnologické využití, které má velký potenciál do budoucnosti, hlavně co se týče využitelnosti rodu *Ulva* jako alternativního obnovitelného zdroje energie, potravinářského doplňku s nezanedbatelným obsahem důležitých proteinů, minerálů a vitamínů a nebo jako zdroje polysacharidů, tzv. ulvanů, které jsou dnes velmi zkoumanou složkou díky své biologické aktivitě využitelné v lékařství.

Klíčová slova: *Ulva*, Ulvophyceae, fylogeneze, morfogeneze, biotechnologie, ekologie, diverzita

Abstract:

The genus *Ulva* represents a remarkable group of organisms, with number of species. It belongs to the class Ulvophyceae, one of the major groups of chlorophytic green algae and it is characterized by a typical dual morphology and isomorphic haplo-diplontic life cycle. This work is a summary of existing knowledge related to this algal genus with regard to the phylogeny, diversity and ecology, which is relatively interesting due to the ability of these algae to adapt to a wide range of abiotic conditions. It also focuses on the development of thallus morphology of these algae, especially with relation to an interesting and very important role of symbiotic bacteria in this process and, last but not least, on the biotechnological utilization that has great potential for the future, especially in terms of the utilization of *Ulva* as an alternative renewable energy source, a food supplement with high content of important proteins, minerals and vitamins, or as a source of polysaccharides, the so-called „ulvans“, which are now investigated for their biological activity and application in human medicine.

Key words: *Ulva*, Ulvophyceae, phylogeny, morphogenesis, biotechnology, ecology, diversity

Obsah

1. Obecný úvod.....	1
2. Systematické zařazení	1
2.1. Zelené řasy (Chlorobionta, Viridiplantae)	1
2.2. Ulvophyceae, Ulvales, <i>Ulva</i>	2
3. Přehled diverzity a fylogeneze rodu <i>Ulva</i>	4
3.1. Fylogenetická systematika a diverzita Ulvaceae	4
3.2. Sjednocení rodů <i>Enteromorpha</i> a <i>Ulva</i>	6
3.3. Regionální diverzita	7
4. Morfogeneze	8
4.1. Morfogeneze rodu <i>Ulva</i>	8
4.2. Role bakterií na morfogenezi	10
4.3. Vliv symbiotických bakterií na růst a kultivaci.....	13
5. Ekologie	14
5.1. Autekologie řas rodu <i>Ulva</i>	14
5.2. Druhy rodu <i>Ulva</i> jako bioindikátory eutrofního vodního prostředí	16
6. Využití v biotechnologiích a potravinářství	19
6.1. Využití rodu <i>Ulva</i> jako zdroje potravy z hlediska výživových hodnot.....	19
6.2. Řasy rodu <i>Ulva</i> jako zdroj biomasy při zpracování odpadních vod, výroba bioplynu	22
6.3. Využití jako zdroj možných léčiv.....	26
7. Závěr	28
8. Reference:	29

1. Obecný úvod

Zástupci rodu *Ulva* jsou zelené řasy patřící do třídy Ulvophyceae, která tvoří jednu ze tří nejdůležitějších skupin v rámci oddělení Chlorophyta spolu s Trebouxiophyceae a Chlorophyceae. Jedná se o významný a velmi studovaný rod, typicky používaný jako modelový organismus, díky svému kosmopolitnímu rozšíření zapříčiněného značnou variabilitou vztahů k abiotickým podmínkám, schopnosti rychle narůst do velkého množství biomasy a typickému životnímu cyklu. Jedná se o řasy, jež mají široké spektrum využití jako zdroj polysacharidů a vitamínů v potravinářství, jako bioindikátory eutrofizace vod s případným užitím v akvakulturách a také jako zdroj bioplynu. Také látky z různých druhů rodu *Ulva*, tzv. ulvany najdou uplatnění například i v lékařství. Všechny tyto aspekty využití a výzkumu těchto zelených řas jsou podrobně diskutovány v následujících kapitolách této bakalářské práce.

2. Systematické zařazení

2.1. Zelené řasy (Chlorobionta, Viridiplantae)

Chlorobionta, také Viridiplantae (tedy zelené rostliny) jsou velmi rozsáhlou a významnou skupinou eukaryotických organismů, poprvé se objevujících přibližně na počátku Mesoproterozoika před cca 1,7 miliardami let díky primární endosymbiotické události, kdy došlo k pohlcení fotosyntetizující sinice (Cyanobacteria) heterotrofním organismem (Rindi *et al.*, 2018). K této symbióze došlo v evoluci nejspíš pouze jedenkrát, oproti tomu sekundární symbiózy vznikly opakovaně, což můžeme dobře pozorovat u velmi variabilních skupin různých protistních organismů. Rostliny s primárním plastidem, takzvaná Archaeplastida, se dělí na tři důležité linie zahrnující Glaukophyta, Rhodoplantae a již zmíněné Viridiplantae (Blindow *et al.*, 2014).

Zelené rostliny se vyznačují třemi hlavními znaky charakteristickými pro všechny jejich zástupce. Prvním je přítomnost buněčné stěny, která tvoří pevný, ochranný obal z polysacharidů a glykoproteinů okolo rostlinných buněk. Dále přítomnost chloroplastů s chlorofyly typu *a* a *b*. Jako poslední je důležité, že hlavním zásobním zdrojem energie je pro ně škrob, uložený v plastidech (to je rozdíl oproti skupinám Glaukophyt či Rhodoplantae, které mají škrob pouze volně v cytoplazmě). Následně se kolem období před 950 milióny let rozdělily na dvě hlavní skupiny, tzv. Chlorophyta a Streptophyta. Další vývoj těchto linií se značně lišil, protože chlorofytní linie se diverzifikovala převážně v mořském prostředí (ale v moderních systémech najdeme i zástupce sladkovodní a terestrické) a dala tak vznik převážné většině zelených

řasových čeledí, zatímco streptofytní linie se diverzifikovala ve sladkovodním prostředí a následně se z ní vyvinuly také dnešní skupiny suchozemských rostlin. Mezi Streptophyta patří relativně menší množství řas, hlavně významné třídy Zygnematophyceae a Charophyceae (Blindow *et al.*, 2014).

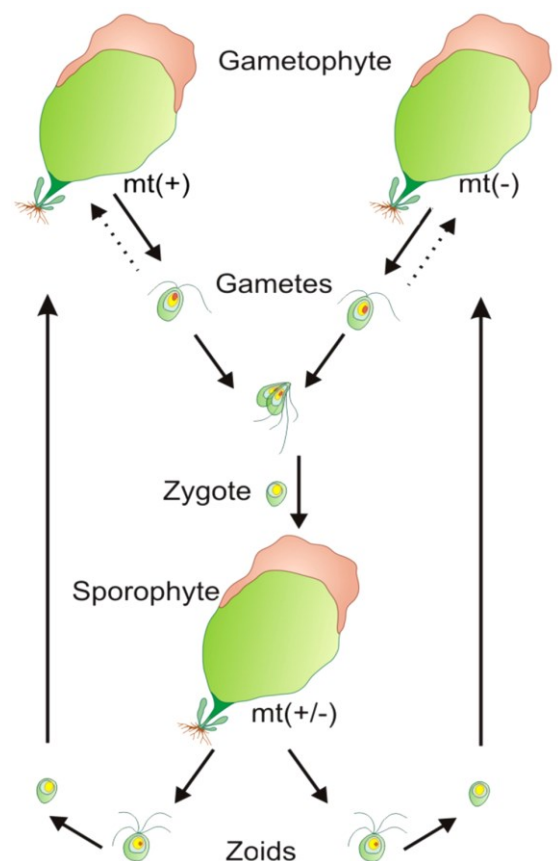
Chlorophyta zahrnují velké množství druhů s širokou morfológickou variabilitou. Najdeme zde jak jednobuněčné bičíkaté, tak mnohobuněčné zástupce tvořící už daleko komplexnější makroskopické stélky. Patří sem tři hlavní třídy, kterými jsou Chlorophyceae, Trebouxiophyceae (převážně sladkovodní a terestriční zástupci) a Ulvophyceae (typicky mořské, ale i sladkovodní), které společně tvoří tzv. „UTC clade“. Někdy se k nim řadí i Chlorodendrophyceae (malá skupina, zahrnující jednobuněčné bičíkovce). Prasinophyceae vůči nim tvoří parafyletickou skupinu, jejíž jednotlivé větve se nejspíše velmi brzy v evoluci oddělily od korunních skupin (Blindow *et al.*, 2014). Typickými znaky této skupiny je uzavřená mitóza, to znamená přítomnost jaderné obálky v průběhu dělení, která zůstává i v průběhu metafáze, oproti streptofytním skupinám, kde dochází k otevřené mitóze a jaderná membrána zaniká. Dalším znakem je přítomnost tzv. fykoplustu během cytokineze buněk, tedy mikrotubulární struktury, jež se tvoří paralelně k rovině dělení (Blindow *et al.*, 2014).

2.2. Ulvophyceae, Ulvales, *Ulva*

Ulvophyceae jsou významnou třídou zelených řas zahrnující přibližně 1902 druhů (Guiry and Guiry, 2019). Součástí nejsou pouze druhy mořské, ale i sladkovodní či brakické a ačkoli je skupina známá hlavně díky svým makroskopickým zástupcům, najdeme zde i některé mikroskopické jednobuněčné řasy. Jednotlivé rody se do této skupiny řadí na základě podobnosti v ultrastruktuře buněk jako je CCW neboli counter-clockwise orientace bičíku (s výjimkou Trentepohliales), absence fykoplustu při dělení buněk (s přítomností fragmoplastu u Trentepohliales) a také speciální podoba cytokineze pomocí tvorby zaškrčení buňky („furling“) (Blindow *et al.*, 2014). Společným znakem by se dalo také označit složení buněčné stěny, která obsahuje látky jako celulózu, mannany, xylany, glukany, sulfidované polysacharidy či rhamnogalakturonany a extensin (Domozych *et al.*, 2012).

Ulvophyceae jsou také typické svým pohlavním rozmnožováním (viz. obr.č.1). Jedná se o skupinu s izomorfní rodozměnou a diplo-haplontním životním cyklem, které se projevují tvorbou sporofytu a gametofytu se stejnou morfologií stélky. Sporofyt je diploidní stádium produkující spory, které jsou typicky kvadriflagelátní (čtyřbičíkaté) (Wichard, 2015). U gametofytu se jedná o haploidní stádium sloužící k produkci pohyblivých biflagelátních

(dvoubíčíkatých) gamet. Gamety mohou být isogamické, tedy stejné samčí i samičí, nebo anizogamické, které se velikostí liší pro jednotlivá pohlaví. Mají také schopnost se rozmnožovat asexuálně pomocí fragmentace stélky, přičemž oddělené části se dokáží znovu uchytit v substrátu a pokračovat v růstu (Rindi *et al.*, 2018). Přeměna stélek v gametofyt či sporofyt musí být regulována, a to pomocí sporulačních inhibitorů. Rozeznáváme dva typy: glykoprotein buněčné stěny s vysokou molekulovou hmotností a faktor, který se nachází mezi buněčnou dvojrůstvou listovité stélky s nízkou molekulovou hmotností, například u druhu *Ulva mutabilis*. Pokud se koncentrace inhibitorů sníží pod určitou prahovou hodnotu, nebo nejsou dále produkovány, dochází k přechodu do fáze gametofytu či sporofytu. (Wichard, 2015). Existuje ještě třetí inhibitor (tzv. „swarming“ inhibitor hromadící se během gametogeneze), jehož odejmutí působí trochu jinak a to tak, že synchronizuje uvolnění gamet a tím zvyšuje pravděpodobnost rozmnožení dané řasy (Wichard *et al.*, 2015).



Obr. č. 1: Izomorfní životní cyklus rodu *Ulva*: Dochází ke střídání fáze sporofytu (diploidní stádium) a gametofytu (haploidní stádium), které se vyznačují stejnou morfologií. Pohlavní typy (mt) se neoznačují samčí a samičí, ale (-) a (+). Šipky znázorňují, jak se vyvíjí jednotlivá stádía po sobě a přerušované šipky naznačují partenogenezi, tedy vývoj gametofytu z nesplynutých gamet (Wichard, 2015).

Mezi Ulvophyceae patří 10 řádů: Bryopsidales, Chlorocystidales, Cladophorales, Dasycladales, Ignatiales, Oltmannsiellopsidales, Scotinosphaerales, Trentepohliales, Ulotrichales a Ulvales, do kterých spadá cca 52 čeledí (Guiry and Guiry, 2019).

Vlastní Ulvales zahrnují 9 čeledí (Guiry and Guiry, 2019), z nich je pro tuto práci nejdůležitější čeleď Ulvaceae, která zahrnuje zástupce s makroskopickou stélkou, u které se tvoří specifický dvojitý typ morfologie. Prvním typem jsou stélky tubulární, tvořené jednou vrstvou buněk a druhé s listovitou stélkou a buňkami ve dvou vrstvách, také tzv. monostromatické (*Ulvaria*), nebo distromatické stélky (*Ulva*) (Blindow *et al.*, 2014). Dále je pro zástupce z této skupiny

typická tvorba jednojaderných buněk s parietálním chloroplastem a jedním, nebo více pyrenoidy. U rozmnožování pro ně platí to samé, co pro celou třídu Ulvophyceae, tedy také například častá partenogeneze (Rindi *et al.*, 2018), kdy může dojít díky spontánní diploidizaci ke vzniku partenosporofytu z neoplozených gamet. Z něj pak vznikají zoidi pouze jednoho pohlaví (Wichard *et al.*, 2015).

Známým a hojně studovaným rodem z této skupiny zelených řas je rod *Ulva*, který obsahuje nejen dobře známé mořské zástupce, ale i velké množství sladkovodních. Mezi typické druhy patří například: *Ulva lactuca*, *U. mutabilis* (mořské), *U. flexuosa* (*Enteromorpha flexuosa*), či *U. pilifera* (*Enteromorpha pilifera*) (sladkovodní).

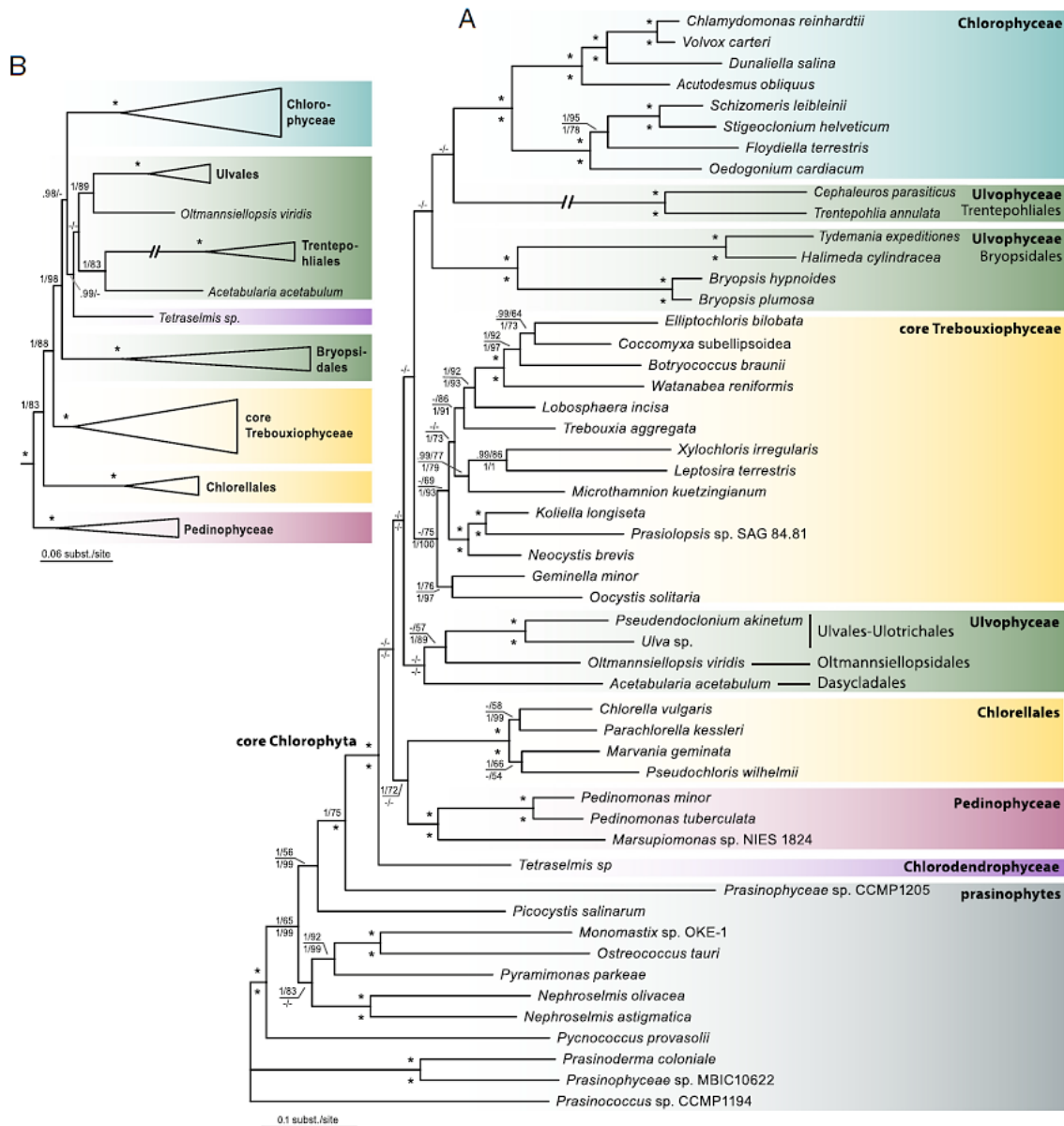
3. Přehled diverzity a fylogeneze rodu *Ulva*

3.1. Fylogenetická systematika třídy Ulvophyceae

Monofyletičnost skupiny byla zpochybnována, protože postrádá unikátní společné fenotypové znaky, které by se nevyskytovaly i u jiných rodů. Chybí tedy ultrastrukturální a biochemické synapomorfie, které by monofylii třídy jednoznačně podpořily (Rindi *et al.*, 2018). Hlavním cílem studií tedy většinou je, prokázat či vyvrátit teorii monofyletičnosti pro Ulvophyceae ve vztahu k dalším dvěma hlavními skupinám z oddělení Chlorophyta, tedy Chlorophyceae a Trebouxiophyceae.

Centrální skupiny Chlorophyt, které se dnes rozlišují, zahrnují: Chlorophyceae, Ulvophyceae, Trebouxiophyceae, jako tři dominantní skupiny s největším počtem druhů a dvě menší skupiny Chlorodendrophyceae a Pedinophyceae (Fang *et al.*, 2018). Vztahy mezi skupinami zůstávají obecně stále málo podpořeny pomocí molekulárních dat. Nejlépe se zatím podařilo určit třídu Chlorophyceae, kde se jedná s poměrně velkou jistotou o monofyletickou skupinu, tedy skupinu, kde všichni zahrnutí potomci pochází z jednoho společného předka (Fučíková *et al.*, 2014). Shoduje se na tom většina studií a to jak při sekvenaci chloroplastových, tak jaderných genomů (Leliaert and Lopez-Bautista, 2015), (Fang *et al.*, 2018). Na rozdíl od této skupiny, Trebouxiophyceae a Ulvophyceae jsou daleko složitější na zařazení a jejich pozice v systému je hodně diskutovaným tématem. Velký problém u Ulvophyceae je nedostatečné množství sekvenovaných genomů, a tedy velmi malé množství molekulárních dat, na kterých se zakládá dnešní způsob fylogenetických analýz. Obecně je v současnosti zastáván názor, že Ulvophyceae tvoří polyfyletickou skupinu, protože jakékoliv analýzy plastidového genomu, kde monofylie skupiny vyšla, měly pouze malou bootstrapovou podporu (Fučíková *et al.*, 2014). Co naopak v analýzách obstálo poměrně dobře, byly dva hlavní clady v rámci Ulvophyceae, a to:

UUO (Ulvaes-Ulotrichales + Oltmannsiellopsidales) a BDTS (Bryopsidales + Dasycladales + Trentepohliales + Scotinosphaerales), ačkoliv vztahy mezi nimi navzájem jsou také nejasné (Fang *et al.*, 2018).



Obr.č.2: A) Fylogenetický strom zařazení jednotlivých korunních skupin Chlorophyt a parafyletické skupiny Prasinophyta s použitím proteinových sekvencí 50 chloroplastových genů, B) s použitím nukleotidových sekvencí 50 chloroplastových genů (Leliaert and Lopez-Bautista, 2015).

Na fylogenetickém stromu (viz. obr.č.2) je dobře vidět právě polyfyletičnost této skupiny, kdy jednotlivé řády zaujímají více různých pozic na stromu, oproti Chlorophyceae, jejichž zástupci vycházející z jednoho předka a nachází se pospolu. Pro lepší orientaci v systému těchto řas nejspíš bude nutné osekvenovat ještě větší množství ulvofytních druhů, hlavně z významných

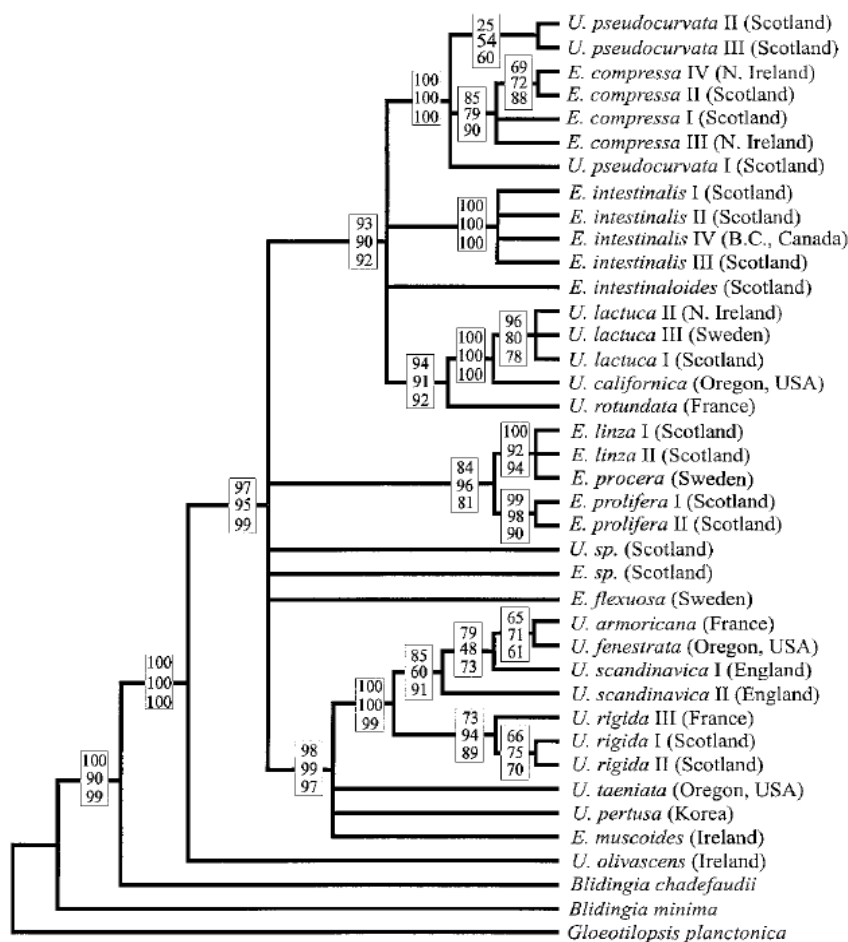
řádů, jako jsou Cladophorales, či Dasycladales, i když ani tak se monofylie této třídy nejspíš se stoprocentní podporou nepotvrdí (Leliaert and Lopez-Bautista, 2015).

3.2. Sjednocení rodů *Enteromorpha* a *Ulva*

Řád Ulvales je skupina vyznačující se poměrně velkou morfologickou plasticitou svých druhů, která se projevuje na rozdílné formaci stélek těchto řas (Guidone *et al.*, 2013). Dříve se myslelo, že dva nejdůležitější zástupci, *Enteromorpha* a *Ulva*, kteří se právě vyznačují velmi odlišnou podobou, jsou dva kompletně oddělené rody. Platilo morfologické rozdělení na tubulární druhy, které se řadily pod rod *Enteromorpha* a listovité pod rod *Ulva*. Dnes už toto neplatí, protože podle molekulárních analýz byla tato domněnka vyvrácena (Hayden *et al.*, 2003). Ukázalo se, že vývojový typ stélky není vůbec rodově specifický, ale jedná se pouze o důsledek vlivu některých abiotických podmínek (Wolf *et al.*, 2012). Pomocí fylogenetických analýz ITS rDNA („internal transcribed spacer“) bylo zjištěno, že rody *Enteromorpha* a *Ulva* nejsou monofyletické a rozdílné vývojové dráhy se musely objevit nejspíš několikrát během evoluce a nezávisí tedy na evoluční historii (Maggs *et al.*, 2012).

Důkazem toho, že se nejedná o dvě úplně odlišné vývojové entity je promíchaná přítomnost obou rodů na fylogenetickém stromě (viz. obr.č.3) (Wolf *et al.*, 2012). Podobně může být důkazem také přítomnost druhů, které mají stélky v podstatě vytvořeny jako mix obou vývojových typů. Například u druhu *Ulva linza* se setkáváme s listovitou (distromatickou) stélkou, která se ale na svých okrajích mění v tubulární (Hayden *et al.*, 2003). Nejspíš je to založeno na přítomnosti molekulárního přepínače, který se zabudovává v genomu zástupců z této skupiny a podle vlivu prostředí, ve kterém se má řasa zformovat se tvoří buď tubulární, nebo listovitá stélka. Tyto změny v podobě stélek poměrně znesnadňují jakékoli určování druhů a jejich řazení do systému. Do této skupiny patří několik kryptických podkladů, jejichž zástupci pouze podle morfologie rozeznat nejdou a jejich rozlišení je tedy čistě na základě molekulární sekvenace. Příkladem může být *U. armoricana*, *U. fenestrata*, *U. scandinavica* a *U. rigida*, které se na první pohled mezi sebou nedají odlišit (Maggs *et al.*, 2012).

Díky těmto objevům se nakonec *Enteromorpha* a *Ulva* zahrnuly pod jeden název a oficiálně tedy všichni zástupci patří do rodu *Ulva* Linnaeus (Maggs *et al.*, 2012).



Obr.č.3: Fylogenetický strom znázorňující promíchané zástupce v *Enteromorpha/Ulva* cladu, při analýze ITS sekvencí. Horní číslo zobrazuje bootstrapovou hodnotu, prostřední – metodu nejbližšího souseda, spodní – metodu maximální věrohodnosti (Maggs *et al.*, 2012).

3.3. Regionální diverzita

Rod *Ulva* dnes zahrnuje 129 oficiálně popsanych druhů (Guiry and Guiry, 2019). Z toho převážná většina jsou druhy mořské, typické svým celosvětovým rozšířením. Proto je zajímavé, že se určité množství nachází i v Evropě nejen ve slané vodě, ale najdeme zde i některé sladkovodní či brakické druhy z vnitrozemských oblastí, pro které jsou typické habitaty jezer, řek a rybníků a to například i na území České republiky (Mareš *et al.*, 2011). Vyskytují se nejčastěji v oblastech hodně antropogenních, které jsou vysoce eutrofizované a poskytují tak velké množství živin pro řasový porost. Celkově je diverzita sladkovodních druhů poměrně nízká a rozlišuje se jen malé množství známých druhů (Rybak *et al.*, 2014). Mezi nejčastější druhy z evropského sladkovodního prostředí se řadí: *U. flexuosa*, *U. pilifera*, *U. paradoxa*, *U. compressa*, *U. intestinalis* a *U. prolifera* (Rindi *et al.*, 2018). Všechno jsou to druhy s tubulární morfologií, žádné listovité typy stélek se ve sladkých vodách nevyskytují (Rybak *et al.*, 2014). Dříve se všechny nalezené sladkovodní druhy pojmenovávali *U. intestinalis*, ale při pozdějších

výzkumech z herbariových položek bylo zjištěno, že tomu tak není a často tento název zahrnoval jiné druhy, hlavně druh *U. flexuosa* a jeho poddruhy (Mareš *et al.*, 2011). *Ulva flexuosa* je druh vláknitý, tvořící jen malé množství postranních větví, typický převážně pro mořské a brakické podmínky, ale s menším výskytem se nachází i ve sladké a mírně slané vodě. Byl nalezen i v Evropě, například v Chorvatsku, Francii a také i mimo Evropu (Rindi *et al.*, 2018). U dalšího druhu *Ulva prolifera* (někdy označován jako poddruh *U. flexuosa* subsp. *pilifera*) se znovu jedná o tubulární druh, v pozdějším stádiu poměrně hodně větvený. Je to nejčastější evropský sladkovodní druh, který je dobře přizpůsoben pro život v nízké salinitě a vodě bohaté hlavně na síran (Rybak *et al.*, 2014). Tento druh můžeme najít dokonce i u nás na území České republiky (Rindi *et al.*, 2018). *Ulva paradoxa* (také někdy *U. flexuosa* subsp. *paradoxa*) je hojně větvený tubulární druh, vyskytující se v širokém rozmezí salinit (od mořské po sladkou vodu). Výskyt ve vnitrozemí je méně častý a vázán hlavně na zásaditou vodu bohatou na minerály, proto je typický na místech hodně ovlivněných lidskou činností. Opět ho můžeme najít i u nás, například solných pánvích apod. (Rybak *et al.*, 2014), (Rindi *et al.*, 2018). Dalším druhem je *Ulva compressa*, která je ve tvaru poměrně různorodá (může být větvená, ale i bez větvení) a je daleko typičtější pro mořské a hodně brakické vody, její výskyt v Evropě ve sladkých vodách je celkem ojedinělý. Podobně i druhy *U. intestinalis* a *U. prolifera* jsou spíše druhy preferující slanou vodu, ačkoli v omezené míře jsou i sladkovodní (Rindi *et al.*, 2018). Z tohoto je patrné, že počet sladkovodních druhů je v Evropě velmi omezen a celkově oproti množství mořských zástupců minimální, i přes to se ve sladkovodním prostředí můžeme setkat za vhodných podmínek s fenoménem tzv. vodních květů. Hodně takových incidentů bylo zaznamenáno například v Polsku, ale některé i přímo na našem území (Rybak and Gąbka, 2018), (Kaštovský *et al.*, 2010).

4. Morfogeneze

4.1. Morfogeneze rodu *Ulva*

Morfogeneze je vývoj tvaru organismu či jeho částí. U mnohobuněčných organismů se často jedná o poměrně složitý proces, proto je významná jeho správná časová a prostorová regulace. U rostlin se buňky v těle organismu nepohybují. Jejich funkce, další vývoj a diferenciací je tudíž dán jejich pozicí ve vztahu k okolním buňkám v bezprostřední blízkosti. Další změny v morfologii mohou být ovlivněny vnějšími podmínkami (různými abiotickými faktory), nebo intracelulárně/extracelulárně (procesy odehrávajícími se uvnitř samotného organismu) (Hurd *et al.*, 2014).

Jedinci a populace rodu *Ulva* se mohou vyskytovat ve dvou hlavních vývojových podobách, buď tvoří stélku tubulární, nebo stélku listovitou, tzv. distromatickou (popř. i monostromatickou). Tyto dva typy se od sebe podstatně a na první pohled liší, proto se původně myslelo, že se jedná o dva kompletně odlišné rody řas. Nakonec se ale na základě molekulárních dat tubulární *Enteromorpha* a listovitá *Ulva* sjednotily do jediného rodu, a to do rodu *Ulva*, který byl jako první popsán a pojmenován už v 18. století Carlem Linné a tedy toto rodové jméno mělo nomenklatorickou prioritu (Rybak, 2015) (viz. Kapitola 3.2.).

Zástupci s prvním typem morfologie mají trubicovitou stélku tvořenou pouze jednou vrstvou buněk, jež je vyplněna buďto tekutinou, nebo častěji plynem, tedy produkty fotosyntézy a respirace. U tohoto typu také hojně dochází k různě rozsáhlému vytváření bočních větví, což je vlastností, která může částečně pomoci při určování konkrétních druhů (Maggs *et al.*, 2012). Najdeme ji například u druhů jako *Ulva flexuosa* či *Ulva pilifera*. Druhý morfotyp se vyznačuje dvojvrstevnou listovitou stélkou, nazývá se tzv. distromatická stélka (Maggs *et al.*, 2012), kde dvě vrstvy buněk silně adherují jedna k druhé a pravděpodobně vznikly srůstáním dvou jednovrstevných částí tubulární stélky k sobě. Předpokládá se, že muselo dojít ke změně buněčné polarity a následné paralelní expanzi obou vrstev (Wichard *et al.*, 2015). Nicméně souvislost mezi vrstvami, tedy zda jsou koordinovány synchronně, či nezávisle jedna na druhé, zatím není dobře prozkoumána. Typickými zástupci s touto stélkou jsou *Ulva lactuca* a *Ulva gigantea*. Také je znám typ listovité stélky, která tvoří pouze jednu vrstvu buněk a této se říká tzv. monostromatická. Najdeme ji například u rodu *Ulvaria* (Rybak, 2018). Tato morfologická podoba nejspíš vznikla roztržením tubulární stélky a jejím rozložením do plochy (Hayden and Waaland, 2002).

Původní předpoklad, že tubulární typ morfologie je typický pro zástupce rodu *Enteromorpha* a listovitý u rodu *Ulva* je tedy nesprávný (Maggs *et al.*, 2012). To, jestli se vytvoří jeden, nebo druhý typ záleží často spíše na podmínkách prostředí, ve kterém se daný druh nachází, případně se to projeví jako výsledek nějaké významné environmentální změny (tomu by také odpovídalo, že k přepínání mezi nimi dochází nepravidelně). Příkladem takových změn může být rozdíl v salinitě vodního prostředí, nebo dokonce přítomnost/absence některých bakterií. Nemuselo ale nutně dojít ke vzniku obou těchto morfologií díky jedné vývojové dráze, mohlo se na tom podílet i více nehomologických vývojových trajektorií (Maggs *et al.*, 2012).

Ulva je mnohobuněčný organismus, nicméně její stavba na buněčné úrovni je poměrně jednoduchá. Skládá se pouze ze tří hlavních typů buněk: kmenových buněk a buněk rhizoidu,

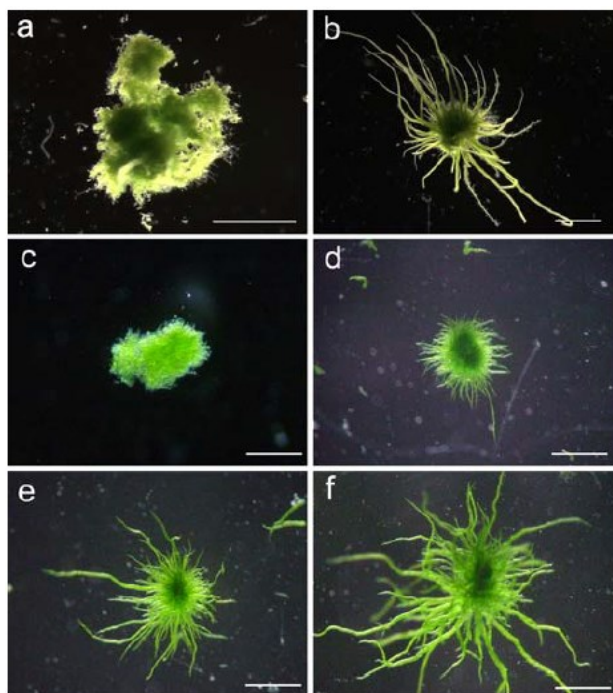
kteře vytvr tztv. „holdfast“ a bunk čepele (tztv. „blade cells“), kteře tvoří samotn listovit stélky, tyto typy tedy dohromady vytvr celou rostlinu (Stratmann *et al.*, 1996). Diferenciace jsou schopny pouze „blade cells“, z nich se také mohou tvořit gametangia, nebo zoosporangia, bez nich by tedy nebylo mořn rozmnořovn (Stratmann *et al.*, 2012). Buňky u zástupců řadu Ulvales jsou jednojadern, stejn jako například u Ulotrichales a Trentepohliales, ale v rámci celé třídy Ulvophyceae najdeme daleko větší mnořstv buněčných typů, stejn jako i další typy stleek. Konkrtn pro rod *Ulva* dále platí, ře buňka obsahuje pouze jeden chloroplast a jeden, nebo více pyrenoidů (Rindi *et al.* 2018).

Jako modelov organismus pro studium morfogeneze řas se vyuřiv *Ulva mutabilis*, tedy řasa, kteřa má tendenci samovoln vytvářet urit konkrtn mutantní formy. Během řivotnho cyklu tvoří buď normln listovit (tztv. „blade-like“) stélky, ale také může dojít k mutaci a vzniku tztv. „slender“ morfologie, coř je nejčastější forma mutace tvořící monostromatick tubulární stélky (velk rozdíl oproti wild typu) (Wichard, 2015), kteřa je vhodn pro experimentln studium díky rychlému řivotnmu cyklu, stabiln partenogenezi a mořnosti vytvářet axenick kultury (Wichard *et al.*, 2015). Mimo ni také může vytvářet další mutanty, kteře se nazvj „long, branched, lumpy, nebo bubble“ (Bryhni, 1974). Navíc je tento druh vhodn pro experimentln vřzkum i díky malému genomu (cca 100 Mpb), krátkému a dobře kontrolovatelnému řivotnmu cyklu, znan tvorbě gamet/spor a blzk příbuznosti k ekonomicky vyuřitelnm druhm (Wichard *et al.*, 2015).

4.2. Role bakterií př morfogenezi

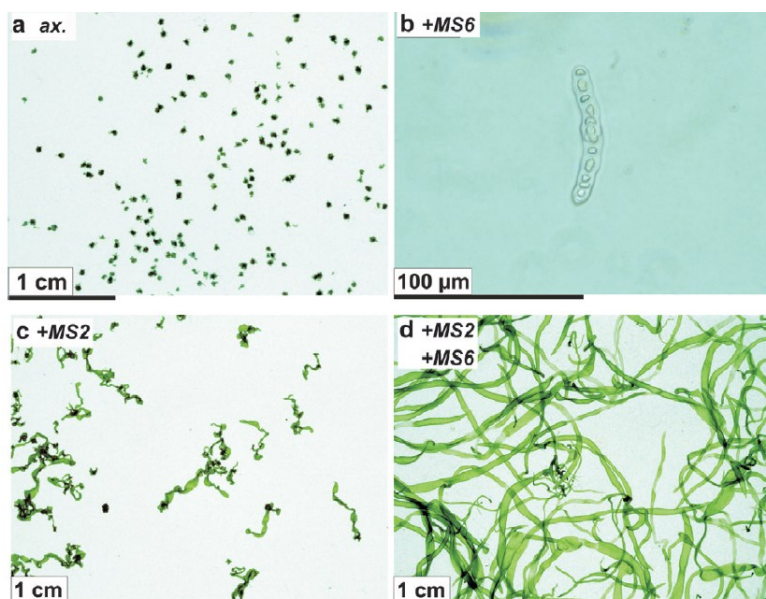
Velk význam pro sprvn vývoj a diferenciaci stleek řas rodu *Ulva* m jejich vztah s epifytickými bakteriálními symbionty. Bakterie mj specifick způsob vzjemn komunikace, pomocí chemických látek, kteře uvolnj do svého okolí pomocí tztv. „quorum sensing „. Tento způsob byl dříve znám pouze jako proces probhjc mezi prokaryoty, ale v pozdější letech se začal zkoumat potencionln vztah i s eukaryotickými partnery (Joint, 2002). Pří pokusech s axenickmi kulturami řas (kultury ošetřeny antibiotiky a tedy zbaven mikroorganismů) bylo zjištěno, ře bez přítomnosti vhodného mikrobiálního společenstva nemůže řasa narůst do své klasick morfologick podoby a namísto toho vytvr pouze struktury podobn kalusu, bez přesn definovanchst, tztv. „pincushion“ morfologie (viz. obr.č.4) (Wichard, 2015). Řasy tedy potřebují konkrtn typy bakterií, kteře jim pomáhj ve vývinu sprvn morfologie, nebo pomáhjc sprvnmu uchycení zoospor. Tento přrozen biofilm se ale na řase nejspíš netvoří nijak druhov specificky, a to jak mikroorganismy řasu

osídlení je spíše náhodné. Zároveň se do jisté míry složení biofilmů mění i během ročních sezón (Tujula *et al.*, 2010).



Obr.č.4: Morfologie druhu *U. linza*, kultivované z uvolněných zoospor: a) axenická kultura (bez přítomnosti bakterií), b) kultura s přítomností klasických bakterií vyvolá tvorbu typické tubulární morfologie, (a i b - po 6 týdenní kultivaci), c-f) řasy 28 dní po inokulaci bakteriálními kmeny: c) kontrola – bez bakterií, d) inokulace blíže neidentifikovaným kmenem mořské bakterie izolované z povrchu řas, e) *Shewanella gaetbuli* (γ -Proteobacteria), f) *Cytophaga* sp. (Bacteroidetes) (Marshall *et al.* 2006).

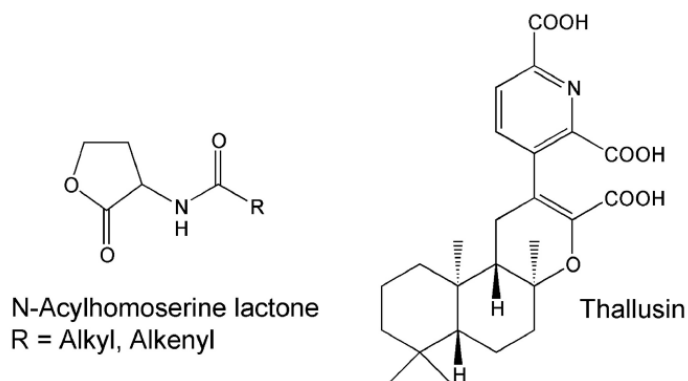
Převážné množství bakterií, které byly nalezeny na povrchu řas z řádu Ulvales bylo zařazeno na základě sekvenace genu 16S rDNA do skupiny *Cytophaga-Flavobacteria-Bacteroid* (CFB), mezi alfa-Proteobacteria, nebo gama-Proteobacteria (Patel *et al.*, 2003). Při pokusech na druhu *Ulva mutabilis* bylo zjištěno, že pro vyvinutí kompletní morfologie jsou třeba zejména dva zásadní rody bakterií, kterými jsou *Roseobacter* a *Cytophaga* sp., jež spolu s řasou tvoří tzv. tripartitní komunitu (viz. obr.č.5). *Roseobacter* nejspíše stimuluje dělení buněk, což je vlastnost, která se dá připodobnit působení cytokininů, tedy fytohormonů u vyšších rostlin a působení rodu *Cytophaga* sp. zase připomíná auxin, tedy umožňuje formaci bazálních kmenových buněk a indukuje tvorbu primárního rhizoidu. Namísto *Roseobacter* byly testovány ještě dva další kmeny bakterií se stejnou výslednou morfologií, kterými byly *Halomonas* (gama-Proteobacteria) a *Sulfitobacter* (alfa-proteobacteria) (Stratmann *et al.*, 2012). Pouze jeden samostatný bakteriální kmen ale celkovou morfogenezi obnovit nedokáže, byly objeveny bakterie, které ovlivňují morfogenezi a pak i jiné, které tuto funkci vůbec nemají, a naopak pouze pomáhají uchycení zoospor (Marshall *et al.*, 2006).



Obr. č. 5: Stimulace tvorby stélky u mutantní formy „slender“ druhu *Ulva mutabilis* pomocí symbiotických bakterií: a) axenická kultura bez bakterií, b) po přidání kmenu *Cytophaga sp.* (MS6), c) po přidání kmene *Roseobacter* (MS2) a d) kombinace obou kmenů MS6 a MS2 (Spoerner *et al.* 2012).

Vzájemný kontakt mezi řasou a bakteriemi není nezbytně nutný, to dokazují experimenty nejen na rodu *Ulva*, ale také *Monostroma*, kdy byly bakterie od řas odděleny tak, aby mohly procházet pouze chemické látky bakteriemi produkované a k fyzickému kontaktu organismů nedošlo. Ve výsledku došlo ke stejnému vývinu řasy, jako když byla pěstována v přímém kontaktu s bakteriálními kmeny (Stratmann *et al.*, 2012). Chemické látky hrající roli v komunikaci mezi buňkami byly předmětem mnoha studií, přičemž příkladem takové látky je N-acyl-homoserinlacton (AHL), který se podílí na správném uchycení zoospor (Marshall *et al.*, 2006). Také k nim můžeme zařadit látku, která nese název thallusin, produkovanou CFB cladem. Tato látka umožňuje vývoj klasické morfologie, což bylo prokázáno na pokusech s druhem *Monostroma oxyspermum*, ale později i na dalších zástupcích z Ulvales (Wichard, 2015). Sloučenina (+-) thallusin je poměrně hodně studovaná, díky své vysoké účinnosti už při nízkých koncentracích (Shizuri *et al.*, 2007).

Obr. č. 6: Molekuly ovlivňující morfologii stélek a uchycení zoospor (Wichard, 2015).



Tento vzájemný vztah mezi organismy je tedy zásadní pro správný vývoj řas, ale také z něj těží bakterie, které řasu využívají hlavně jako zdroj organického uhlíku. Uhlík, pokud ho má řasa nadbytek, uvolňuje do bezprostředního prostředí stélky, odkud ho mohou získávat bakterie (Armstrong *et al.*, 2000).

Pokusy o navrácení klasické morfologie ukázaly, že pro správnou diferenciaci se dá využít i faktorů, které indukují druhově specifickou morfologii u vyšších rostlin (tzv. morfogenů). Příkladem může být auxin, který u rostlin zajišťuje správný dlouhivý růst, u řas rodu *Ulva* zajistil tvorbu většího množství zárodečných buněk a vznikala delší filamenta stélky. Další zkoumanou látkou byl kinetin s podobnými účinky. Jejich výsledná kombinace dala vznik klasické morfologii a to i bez přítomnosti symbiotických bakterií, ačkoli stélky byly obecně menší než za normálních podmínek v přírodě (Provasoli, 2007). Dokonce byl prokázán i jistý efekt kyseliny fenyloctové, která ovlivnila morfologii tubulárních stélek, ale nedokázala navrátit správnou podobu u stélek, které tvořily tzv. „pincushion morfologii“, a to ani společně s kinetinem. Pro takovou funkci by bylo nejspíše nutné přidání většího množství dalších regulátorů (Fries and Åberg, 2013). Studium interakcí řas s růstovými faktory vyšších rostlin je zajímavým tématem a usnadnilo by to kultivaci v laboratorních podmínkách, kdy by se nemusely izolovat nutné bakteriální kmeny a stačilo by přidání více využívaných morfogenů.

4.3. Vliv symbiotických bakterií na růst a kultivaci

Dostupnost symbiotických bakterií v kultivačním médiu je pro správný vývin řas z řádu Ulvales zásadní, stejně tak pro správné uchycení jejich zoospor. Proto je při cíleném pěstování těchto řas nezbytné zajistit přítomnost konkrétních bakteriálních kmenů.

Bakteriální biofilm dokáže celkově zvýšit počet uchycených zoospor, což bylo ukázáno v porovnání s čistými, ošetřenými povrchy, na kterých byla úspěšnost uchycených spor nižší. Bakterie tedy zvyšují schopnost zoospor osídlit nové povrchy (Marshall *et al.*, 2006). Mechanismus, který s tímto souvisí, se zakládá na schopnosti spor registrovat N-acyl-homoserinlacton (AHL) a nějakým způsobem reagovat na jeho přítomnost ve svém okolí. Spory se mohou pohybovat směrem k němu a hromadit okolo něj ve vyšších koncentracích, jedná se nejspíš o chemokinezi (Wichard, 2015).

Vztah bakterií a jejich efekt na kultivaci můžeme pozorovat například na pokusech K. Marshallové a jejích spolupracovníků na druhu *Ulva linza*, kde byla testována účinnost

20 bakteriálních kmenů (převážně z Proteobakterií a skupiny Bacterioidetes) na morfologii či na uchycení zoospor oproti kontrole. Po stanovené době kultivace došlo u jedinců s bakteriemi k většímu nárůstu povrchu řas oproti kontrole v závislosti na kmeni bakterie asi o 3 až 243%. Co se týče rychlosti růstu, tak většina se zvýšila jen o poměrně málo, jen asi u 6 druhů byla zaznamenáno signifikantní zvýšení. Je tedy vidět, že přidání některých bakteriálních kmenů s vyšším stimulačním účinkem by mohlo pomoci s většími výnosy v kulturách. Také byl zkoumán efekt na uchycení zoospor, i v tomto případě přítomnost bakterií pomohla k většímu množství úspěšně uchycených spor, oproti axenickým kulturám. Každopádně nebyla pozorována žádná přímá souvislost mezi účinkem na zoospory a změnou růstu, proto se nejspíš na každém úkonu podílí jiné typy bakterií (Marshall *et al.*, 2006). V dalších nezávislých pokusech bylo ale zjištěno, že existují i bakteriální kmeny s inhibičním účinkem, kdy došlo k paralýze buněk (spory se staly nepohyblivými) a po delší době až k jejich lyzi. Také se zdá, že uchycení spor závisí i na stáří biofilmu. U některých byl stimulační efekt vyšší u starších biofilmů, naopak jiné působily lépe jako mladší. Každopádně s jejich efektem nejspíš nemá souvislost hustota bakterií v biofilmech. Ačkoli byl proveden experiment, kdy se hustoty stimulačních a inhibičních bakterií vyrovnaly, efekt byl u většiny stále stejný. Tedy na množství bakterií už nejspíš tolik nezáleží (Patel *et al.*, 2003). Tyto studie a mnoho dalších ukazují, že správnou manipulací se symbiotickými bakteriálními kmeny by se dal poměrně dobře ovlivnit výsledný výtěžek a obecně zlepšit podmínky kultivace řas rodu *Ulva*.

5. Ekologie

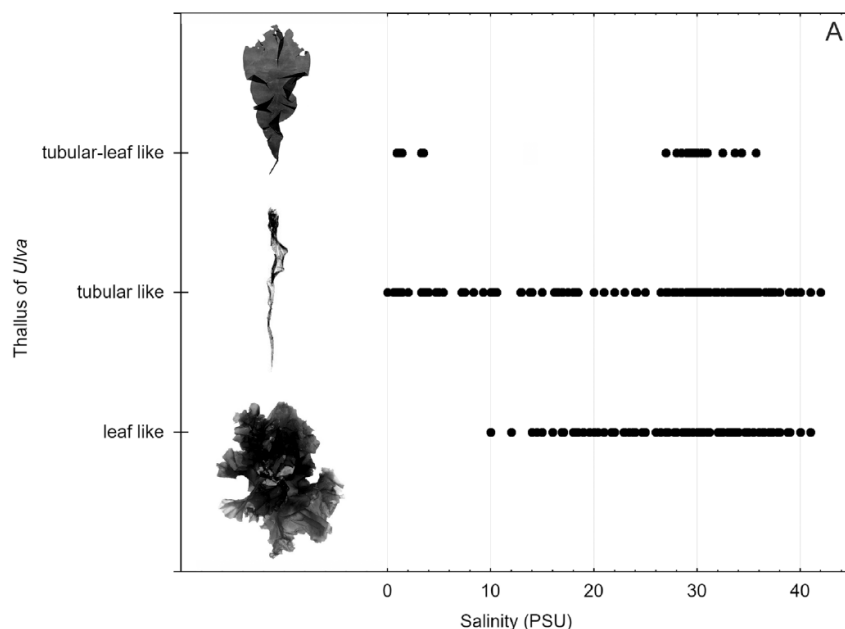
5.1. Autekologie řas rodu *Ulva*

Zástupci rodu *Ulva* jsou jedny z hojně se vyskytujících, kosmopolitně rozšířených řas. To je možné díky jejich extrémní odolnosti vůči širokému spektru abiotických podmínek, např. salinitě, teplotě, kolísání obsahu živit a intenzitě ozáření (Rybak and Gąbka, 2018). Jsou tedy typickými zástupci nejen mořských ekosystémů, kde žijí asi nejznámější zástupci, jako jsou *Ulva lactuca*, či *Ulva compressa*, ale vyskytují se i ve sladké, nebo brakické vodě. Přirozeně se *Ulva* vyskytuje hlavně jako epilitická rostlina, to znamená, že ji lze najít uchycenou na pevných podkladech, jakými jsou například kameny, ale také bychom ji mohli pozorovat na antropogenních substrátech (na trupu lodi, či na betonových částech přístavů). Byly nalezeny i někteří epifytiční zástupci, rostoucí na povrchu jiných makrořas apod. (Rindi *et al.*, 2018). Při případném odtrhnutí od substrátu se *Ulva* dokáže pohybovat i volně ve vodním sloupci a za příhodných podmínek s velkým množstvím živit se dokonce namnožit do obrovských biomas

a tvořit vodní květ. Takto masivní namnožení s sebou často může přinášet negativní vlivy na rozšíření některých organismů či na lokální ekonomii, a to ačkoli *Ulva* neprodukuje žádné toxické látky (Rybak, 2018).

Obecně pro rostliny, a tedy i řasy platí, že mají určité optimum růstu, které je souborem nejvhodnějších podmínek pro růst a vývoj těchto organismů. Optima se liší pro různé druhy, ale obecně pro ulvofytní řasy platí, že jejich největší rozvoj probíhá v mírném pásu během jarních a letních měsíců, kdy je vhodná teplota a dostatečný přísun slunečního záření pro fotosyntézu (Rindi *et al.*, 2018). Abiotické faktory nemusí ovlivňovat pouze rychlost růstu, ale také například způsobovat změny v morfologii stélek, či hrát roli v úspěšnosti uchycení zoospor (Bijo *et al.*, 2010). Příkladem může být změna jednoduché stélky na větvenou při vychýlení z optima u druhu *Ulva intestinalis*, která byla vystavena salinitě >35 PSU, zatímco její optimum bylo stanoveno mezi 15-20 PSU (Reed and Russell, 1978).

Jedním z nejvýznamnějších limitujících faktorů prostředí je salinita, tedy míra rozpuštěných minerálních látek ve vodě. Řasy z rodu *Ulva* jsou přizpůsobeny celému spektru salinit od <0,5 do 49 PSU a díky tomu je můžeme najít ve velkém množství vodních biotopů (Rybak, 2018). Bylo zjištěno, že do určité míry salinita také koreluje s morfologií stélky, jejíž podoba je tedy částečně závislá na faktorech prostředí, ve kterém se daný zástupce vyskytuje (viz graf č.1).



Graf č.1: Rozdíly v morfologii stélky s ohledem na množství vodní salinity: toleranci k největšímu spektru salinity vykazují druhy tubulární (od 0 až > 40 PSU) (Rybak, 2018).

Druhy s tubulární stélkou vykazují větší spektrum tolerance k různé salinitě, můžeme je najít jak v hyperhalinních (kde počet obsažených solí může převyšovat 40 PSU), tak i sladkovodních (měkká voda má velmi malé množství solí, pod 0,5 PSU) ekosystémech. Naproti tomu druhy s listovitou (distromatickou) stélkou mají často výrazně omezenější optimum výskytu, s významným zastoupením jen v euhalinních (kolem 30–40 PSU) a polyhalinních (18–30 PSU) vodách. Ve sladké, či mírně slané vodě (<10 PSU) se vůbec nevyskytují. Někdy se také rozlišuje ještě třetí typ morfologie stélek a to typ, který je kombinací jak tubulární, tak listovité stélky, tzv. „tubular-leaf like“. Tyto stélky typicky najdeme například u druhu *Ulva linza*, který se vyskytuje ve dvou typech vod. Prvním jsou vody oligohalinní (cca 0–5 PSU) a druhým polyhalinní (18–30 PSU) (Rybak, 2018).

5.2. Druhy rodu *Ulva* jako bioindikátory eutrofního vodního prostředí

Organismus se označuje pojmem bioindikátor, pokud nějakým způsobem podává informaci o stavu životního prostředí (kvalitě podmínek) dané oblasti, ve které se vyskytuje. Příkladem indikátorů znečištění vod mohou být zpravidla zástupci makrořas a to ze všech tří hlavních skupin Rhodophyceae, Phaeophyceae i Chlorophyceae (Chakraborty et al., 2014). *Ulva*, jako zástupce Zelených řas, je jedním z takto využívaných organismů. Poměrně často jako indikátor zvýšené eutrofizace, na kterou reaguje tvorbou obrovského množství biomasy, ale také se uvažuje její potencionální využití, jako indikátor velkého množství rozpuštěných kovů ve vodě, které dokáže inkorporovat do svých stélek (Chakraborty et al., 2014).

Přibližně od roku 1970 s rostoucím množstvím eutrofizovaných vod roste také počet incidentů s vodními květy (Smetacek and Zingone, 2013). Vodní květ (tzv. „green tide“) je masivní namnožení biomasy řas, případně sinic ve vodě, které může mít neblahý vliv na ostatní organismy v okolí i na celou řadu dalších faktorů. Některé, hlavně sinicové květy produkují také velké množství různých toxických látek, které mohou být nebezpečné i pro člověka. Typickými zástupci zelených řas, kteří se výrazně podílejí na tvorbě vodních květů jsou právě řasy rodu *Ulva*, jedná se o r-stratégy, kteří umí využít vhodných podmínek prostředí a masivně se namnožit nejen ve sladké, ale i slané vodě. *Ulva* neprodukuje toxické látky, ale její přítomnost ve velkém množství může způsobovat jiné problémy, například mořské druhy negativně ovlivňují turismus, rybářství a lodní dopravu v postižené oblasti. Při extrémně velké biomase byly také zaznamenány případy, kdy neodklizená masa rostlinné hmoty začala hnit a produkovat toxickou látku sirovodík (Smetacek and Zingone, 2013). *Ulva*les tvoří vodní květ takovým způsobem, že musí většinou dojít k odtržení stélky od pevného substrátu, na kterém

se přirozeně drží a následně se tato uvolněná část stélky může volně pohybovat ve vodním sloupci, kde při vhodných podmínkách dochází k jejímu velkému namnožení. Může dokonce konkurovat i fytoplanktonu, který je jí přerůstán a stíněn, a tak nemůže dostatečně fotosyntetizovat. Nový způsob života oddělených stélek s sebou přináší také výhody v tom, že *Ulva* už není limitována konkurenty, kteří s ní zápasili o volný prostor na pevných substrátech a také je ve vodním sloupci nepřístupná plžům (Gastropoda) a menším korýšům (Crustaceae), kteří jsou nejčastějším problémem, protože způsobují masivní ožery jejich stélek. (Smetacek and Zingone, 2013)

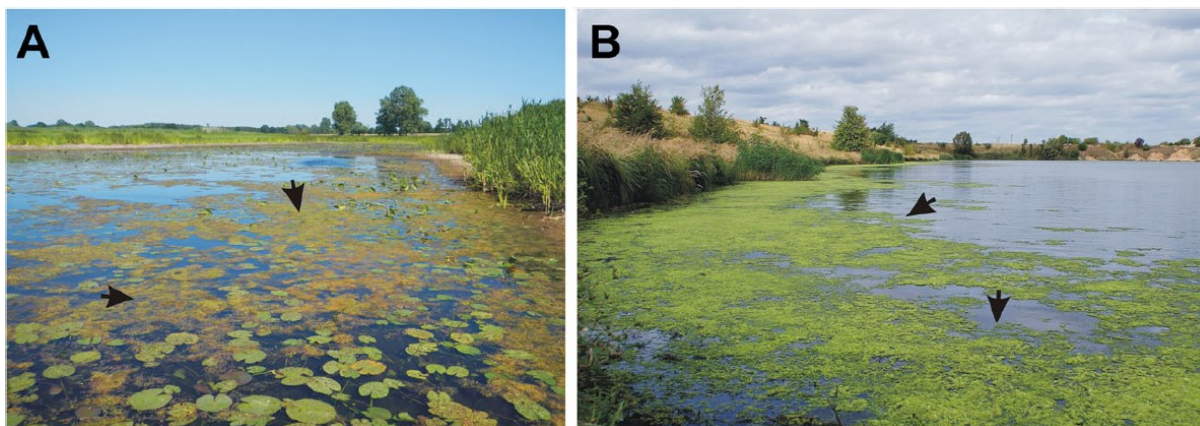
Vznik zelených vodních květů v pobřežních oblastech moří není ojedinělou událostí a byl dokumentován na množství lokalit v Evropě, Americe, Austrálii a je velmi častým úkazem převážně v Asii (Qu *et al.*, 2016). Tam byl také zaznamenán doposud největší vodní květ vůbec, který se objevil v zálivu Quingdao v Číně v roce 2008. Ale v menší míře se zde vyskytovaly každoročně od roku 2007 do roku 2015 (Qu *et al.*, 2016). Záliv se nachází v části Žlutého moře a jedná se o velmi ekonomicky a průmyslově využívanou oblast. Díky místním akvakulturám, zemědělství a vypouštění odpadních látek do moře právě dochází k výraznému zvýšení eutrofizace a vzniku vhodného prostředí s dostatkem živin (hlavně rozpuštěného dusíku) pro nárůst řas. Pravděpodobně zde došlo k oddělení částí stélek rodu *Ulva* porůstající akvakultury rodu *Porphyra* (místně pěstovaná červená řasa) a následně zformování menších raftů, které byly pomocí větru a mořských proudů přemísťovány na sever, právě do oblasti zálivu Quingdao. Během přesunu se jednotlivé rafty spojovali až daly vznik největšímu povlaku zelených řas na světě zahrnujícího cca 100 000 tun biomasy na rozloze 3489 km² (Liu *et al.*, 2013). Podle molekulární analýzy plastidového genu velké ribozomální podjednotky 1,5-bisfosfokarboxylázy a vnitřního integrovaného spaceru rDNA (ITS) a také na základě morfologie byla jako dominantní druh řasy tvořící tento květ určena *Ulva prolifera* (Ye *et al.*, 2009) a v menší míře ho tvořila také *Ulva intestinalis* (Qu *et al.*, 2016). *U. prolifera* je tubulární vláknitá řasa, může být různě větvená a je typická pro slané či brakické vody, kde je za normálních podmínek uchycena k podkladu pomocí tenkého holdfastu. V menší míře se ale může vyskytovat i ve sladké vodě. *U. intestinalis* je velmi podobná svým výskytem i morfologií, ale často u ní nedochází k postrannímu větvení stélky (Rindi *et al.*, 2018).



Obr. č. 7: Mořské vodní květy rodu *Ulva* („green tides“): 1) vodní květ na pláži v Bretani, Francie, 2) největší vodní květ v zálivu Quingdao, Čína (Smetacek and Zingone, 2013).

Kromě řádu Ulvales se můžeme setkat často i s jinými zástupci zelených ulvofytních řas, tvořících vodní květy. Mohou to být například *Chaetomorpha* či *Cladophora* (Liu *et al.*, 2013). A přesto, že mezi nimi najdeme nejvýrazněji působící jedince, existuje i několik rodů řas z jiných skupin, které toto dovedou. Typickým příkladem může být rod *Sargassum* z Phaeophyceae, který vytváří tzv. zlaté květy (tzv. „golden tides“) a je také zajímavým příkladem jediné holopelagické řasy, která žije neuchycená k podkladu i za přirozených podmínek (Smetacek and Zingone, 2013).

S méně extenzivními vodními květy rodu *Ulva* se můžeme setkat také ve sladkovodním prostředí. Zvláště v posledních letech došlo k jejich velkému rozvoji i v oblastech střední Evropy, zejména v souvislosti s výskytem rodu *Ulva flexuosa* (Rybak and Gąbka, 2018). *U. flexuosa* se nachází jak v lentických (stojatých), tak i lotických (tekoucích) vodách, přičemž její výskyt je značně ovlivněn například množstvím minerálních látek ve vodě, teplotou, množstvím živin a pH. V tekoucích vodách je zpravidla vyšší koncentrace rozpuštěných minerálních látek než ve stojaté, a proto se zde setkáváme častěji s početnějšími a většími vodními květy. Naproti tomu stojaté vody jsou zase typické vyšší teplotou a hodnotami pH. Sladkovodní květy obecně mají daleko rychlejší dynamiku než mořské. Dochází k jejich rychlému vzniku a dekompozici a za krátkou dobu pak může vznikat zase nový. Stejně tak pokud se vytvoří dlouhodobější pokryv řas, tak i u něj dochází k velkým změnám v průběhu času, mění se velikost květu apod. Stejně jako u mořských zástupců i tady se populace rodu *Ulva* objevují v takto velkém množství především při zvýšené eutrofizaci vody a způsobují problémy hlavně pro lokální bentické organismy (Rybak and Gąbka, 2018).



Obr. č. 8: Sladkovodní květy druhu *U. flexuosa*: A) menší vodní květ v jezeře BiałoBrzeg v Polsku, B) Rozsáhlejší vodní květ na břehu rybníka Konin v Polsku (Rybak and Gąbka, 2018).

V dnešní době se vodní květy monitorují především pomocí satelitních snímků (Rybak and Gąbka, 2018). To by se dalo využít i při boji proti přílišnému nárůstu biomasy, protože kdybychom byli schopni identifikovat teprve začínající květy, tak bychom je mohli poměrně jednoduše odstranit, ještě, než se rozrostou do extrémních velikostí. Daly by se používat lodě pro sběr oddělených stélek, tyto stélky by se případně mohly i průmyslově využít. Jakmile je ale necháme zformovat do velkého množství a vyplaví se na břeh, je těžké se jich zbavit a díky hnití se stávají nevyužitelnými a nebezpečnými. Bohužel by celý proces byl velmi nákladný a vodní květy nejsou tak pravidelnou a rozšířenou záležitostí, aby zatím vzniklo nějaké větší odvětví průmyslu, které by se tímto problémem zabývalo (Smetacek and Zingone, 2013).

6. Využití v biotechnologiích a potravinářství

6.1. Využití rodu *Ulva* jako zdroje potravy z hlediska výživových hodnot

Tradice používání řas jako potravy pochází z Japonska, kde i dnes je největší produkce množství řasových výrobků. Využívanými nejsou pouze zelené řasy (Chlorophyta), ale daleko častěji také červené (Rhodophyta) a hnědé (Phaeophyta) řasy (Nisizawa *et al.*, 1987). Obecně jsou řasy často bohaté na sacharidy, minerální látky a vitamíny, které jsou pro člověka nezbytně důležité, a proto jsou častým doplňkem stravy, také obsahují poměrně velké množství proteinů a málo lipidů. Díky těmto vlastnostem je zkoumáno stále větší množství využitelných druhů. Řasy se také často využívají jako potrava pro zvířata a mimo potravu jsou také důležité jejich zásobní polysacharidy, jako jsou algináty (hnědé řasy), karagenany, agar (červené řasy) apod. Ty se využívají spíše jako zahušťovadla či stabilizátory jiných potravin a jsou zatím pravděpodobně komerčně nejvíce používané (MacArtain *et al.*, 2007). I dnes je hlavním centrem kultivace řas s jejich využitím v potravinářství Asie (kromě Japonska také hodně Čína,

popřípadě Korea apod.). V západních zemích chybí intenzivní pěstování řas ve velkém množství a dochází spíše k dovozu z východu, protože zde řasy netvoří hlavní složku potravy, a tak je nákladná komerční kultivace v těchto oblastech většinou nevýhodná, ačkoliv v posledních letech se stává jejich využívání čím dál atraktivnějším a je možné, že časem i zde dojde k výraznějšímu rozvoji tohoto průmyslu (Li *et al.*, 2014). S kulturami řas se zpravidla setkáme pouze v přímořských oblastech, kde je pěstování méně ekonomicky náročné díky snadnému přístupu ke slané vodě, oproti tomu ve vnitrozemských oblastech by kultury častěji pěstovaných mořských druhů byly velmi náročné na údržbu (Jensen, 1993).

Ulva je dobrým rodem pro široké spektrum využití, díky svému kosmopolitnímu rozšíření, odolnosti proti velkému množství abiotických faktorů a schopnosti vytvářet poměrně velké množství biomasy (Rybak and Gąbka, 2018). Také se skládá z množství látek, které poskytují potenciál pro výživu nejen zvířat, ale i člověka. Proteinové složení se může značně lišit u různých druhů. U rodu *Ulva* můžeme najít obsah proteinů kolem 10 až 26 % suché hmotnosti, například u druhu *U. pertusa* tvoří proteinová složka vysoký obsah, kolem 20 až 26 % sušiny (Fleurence *et al.*, 1999), naopak u známého druhu *U. lactuca* zabírají proteiny jen cca 11% sušiny (Tabarsa *et al.*, 2012). Stejně tak může ještě docházet k sezónním výkyvům během roku (Fleurence *et al.*, 1999). To ukazuje například studie na druzích *U. rigida* a *U. rotundata*, u kterých byl zjištěn nejvyšší obsah proteinů během zimních měsíců (cca 17 až 24 % sušiny), na rozdíl od jara, kdy byl obsah nejnižší (cca 11 až 16 % sušiny) (Rouxel *et al.*, 2001). Co se týče aminokyselinového složení, tak u rodu *Ulva* můžeme nalézt poměrně velké množství esenciálních aminokyselin, které si lidské tělo nedokáže samo vytvořit. Konkrétně u druhu *Ulva lactuca* jich bylo nalezeno 8 a to methionin, leucin, lysin, fenylalanin, tyrosin, izoleucin, threonin a valin. Součástí byli i dvě semiesenciální (tedy esenciální jen v některém období), kterými jsou histidin a arginin. Také obsahovala 7 neesenciálních AK. Celkově nejhojnějšími z nich byli arginin a glutamin, naopak methionin byl spíše jednou z limitujících aminokyselin (Tabarsa *et al.*, 2012).

Na rozdíl od proteinů, řasy rodu *Ulva* obsahují pouze malé množství lipidů, u druhu *U. lactuca* se pohybujeme pouze kolem 1% sušiny, nicméně se jedná o charakteristiku typickou pro všechny řasy, kdy obsah lipidů nikdy nepřesahuje víc než 4% (Tabarsa *et al.*, 2012). Většinu obsahu mastných kyselin zabírají polynenasycené MK, mezi které patří například důležité omega 3 a omega 6 mastné kyseliny. Ty jsou velmi významné pro správnou výživu člověka a to hlavně jejich vyvážený poměr (MacArtain *et al.*, 2007). Převážně v západních zemích se můžeme setkat s velmi nevyváženou dietou, která sestává především z omega 6 mastných

kyselin, na rozdíl od omega 3, kterých je ve stravě často nedostatek. Příliš vysoký poměr $\omega 6/\omega 3$ zvyšuje riziko především kardiovaskulárních onemocnění, ale také rakoviny, zánětlivých a autoimunitních onemocnění (Simopoulos, 2002). Řasy obsahují velmi nízké poměry těchto mastných kyselin, proto jsou vhodnými kandidáty na zařazení do jídelníčku lidí s těmito problémy. Příkladem může být *U. lactuca* s velmi nízkým poměrem $\omega 6/\omega 3$ kolem 1,2 % z celkového obsahu mastných kyselin, který je ideální pro vyvážanou výživu člověka (Tabarsa *et al.*, 2012).

Další významnou součástí řas je vláknina, která je pro člověka špatně stravitelná, proto pomáhá spíše z hlediska lepšího průchodu potravy tlustým střevem, případně může také navozovat pocit sytosti. U rodu *Ulva* byly prokázány hodnoty obsahu vlákniny kolem 3,8g na 100g sušiny, což je srovnatelné s obsahem v některých jiných využitelných terestrických rostlinách (např. v hnědé rýži, zelí, banánech apod.) (MacArtain *et al.*, 2007). Mořské druhy také hojně obsahují velké množství minerálních látek, jakými jsou například sodík, draslík či vápník, jejichž koncentrace u řas rodu *Ulva* často dokonce převyšuje jejich obsah u suchozemských rostlin (např. u listového salátu, zelí, mrkve, brokolice i špenátu apod.) (Tabarsa *et al.*, 2012). V neposlední řadě je poměrně dobře využitelnou součástí obsah vitamínů, což jsou nízkomolekulární látky, které si opět člověk není schopen sám syntetizovat, a tak je nutné je přijímat v potravě. Druh *U. rigida* obsahuje především velké množství vitamínů C a E, které jsou poměrně účinnými antioxidanty, ale také například některé vitamíny ze skupiny B (ve vyšším množství např. B1, B2 a také B12). Řasy s obsahem vitamínu B12 by mohly být nadějnou náhražkou pro vegany a vegetariány, kteří mají tohoto vitamínu nedostatek, protože lidé ho přirozeně získávají zpravidla z živočišných výrobků, jako je maso, vajíčka apod. (Taboada *et al.*, 2010). Tyto vitamíny byly potvrzeny i u dalších druhů, jako u druhu *U. lactuca* (Tabarsa *et al.*, 2012), nebo *U. pertusa* (Nisizawa *et al.*, 1987).

Jedním z nejznámějších potravinových výrobků v Japonsku je tzv. aonori, což jsou stélky rodu *Ulva* v kombinaci ještě s dalším rodem, kterými je zpravidla *Monostroma* (Nisizawa *et al.*, 1987). Komerčně nejvíce používané jsou konkrétně druhy *Ulva pertusa*, *Enteromorpha prolifera* (dnes už *Ulva prolifera*) a *Monostroma latissimum* (Rouxel *et al.*, 2001). Co se týče nutričního složení, aonori obsahuje poměrně velké množství proteinů (kolem 20-26%) a také obsahuje 13-23% minerálních látek. Naopak má velmi nízké hodnoty lipidických složek, v průměru jen kolem 1%. Dále tyto řasy zajišťují pro člověka přísun vitamínů, kterými jsou opět hlavně vitamíny ze skupiny B, ale také v trochu menší míře ze skupiny A. Dokonce obsaženým množstvím vitamínu B převyšuje aonori velké množství tradičně používaných

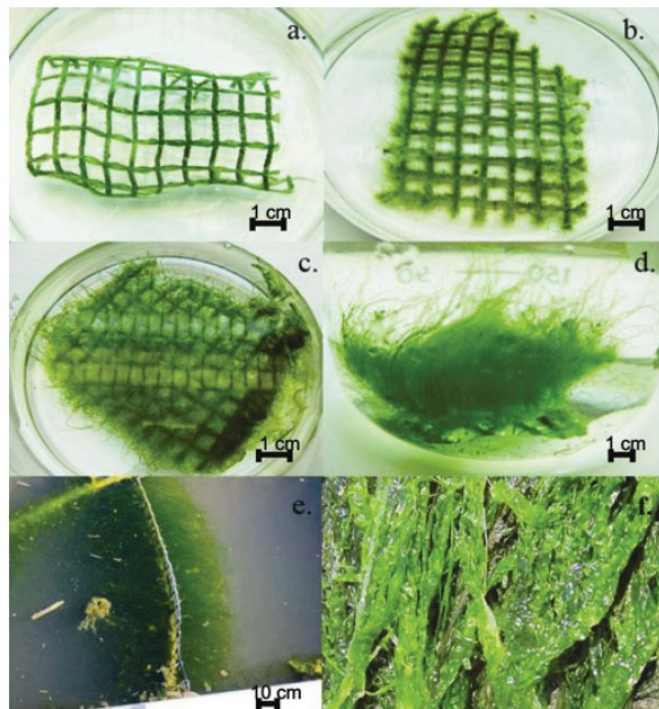
zelenin (Nisizawa *et al.*, 1987). Dalším možným využitelným druhem je *Ulva fasciata* Delile, která se typicky vyskytuje na severozápadním pobřeží Indie. Její potenciál tkví ve vysokém obsahu vitamínů, proteinů a esenciálních mastných kyselin. Snahou je zavést tuto řasu, jako přísadu přidávanou do oblíbených, tradičně využívaných potravin, které by tak byly obohaceny o tyto důležité látky (Mantri *et al.*, 2011). Zajímavostí je také to, že z ní byla vyizolována látka (erythro-oktadekasfinga-4,8-dienin-palmitát), u které byly prokázány antivirové účinky proti viru japonské encefalitidy (Sharma *et al.*, 2009).

6.2. Řasy rodu *Ulva* jako zdroj biomasy při zpracování odpadních vod, výroba bioplynu

Během posledních let se zájem o využívání biopaliv jako zdroje energie poměrně značně zvyšuje, což je dáno rostoucí koncentrací CO₂ v atmosféře. Oxid uhličitý je velmi efektivním skleníkovým plynem, který se uvolňuje při spalování fosilních paliv (dnes nejčastěji využívaný zdroj energie) a jeho výrazný nadbytek v atmosféře vede k problému globálního oteplování. Kromě CO₂ se během těchto procesů do prostředí dostávají i jiné polutanty, a proto by obnovitelné zdroje byly dobrou alternativou, která s sebou nese hodně výhod. Nejen menší množství škodlivých látek vylučovaných do okolí, ale také biomasa, vhodná ke zpracování, je poměrně dobře dostupná z přirozených zdrojů (Demirbas *et al.*, 2010). Řasy jsou jedním typem takto využívaných zdrojů biomasy, ačkoli stále ještě ne v tak velkém množství, vzhledem k vysokým finančním nákladům, které s sebou přináší jejich kultivace v komerčním měřítku (Bruhn *et al.*, 2011).

Zástupci rodu *Ulva* jsou poměrně nadějnou skupinou řas pro úspěšnou velkoplošnou kultivaci, vzhledem k jejich kosmopolitnímu rozšíření, vysokým rychlostem růstu a schopnosti přežít v širokém spektru abiotických podmínek, což by potenciálně umožňovalo pěstování těchto řas během celého roku (Taylor *et al.*, 2001). Hodně zkoumanými v kontextu pěstování jsou hlavně vláknité druhy řas, které vykazují ještě o hodně vyšší tolerance k podmínkám prostředí než druhy s listovitou stélkou. Nacházíme mezi nimi zástupce schopné přežít ve velmi širokém spektru salinit a také ve vysoké teplotě (klidně i kolem 40 °C) a proto jsou dobrým zdrojem biomasy (Carl *et al.*, 2014). Kromě vláknitých druhů se ale hojně pěstuje i *Ulva lactuca*, ačkoli se jedná o druh s listovitou stélkou a je trochu méně odolná, najdeme u ní vlastnosti, které by mohly být využitelné hlavně z hlediska bioremediace (to je obecně proces, při kterém organismy pomáhají měnit nebezpečné/toxické látky na nerizikové). Mezi tyto vlastnosti patří hlavně schopnost dobře využít velké množství živin z eutrofizovaných vod

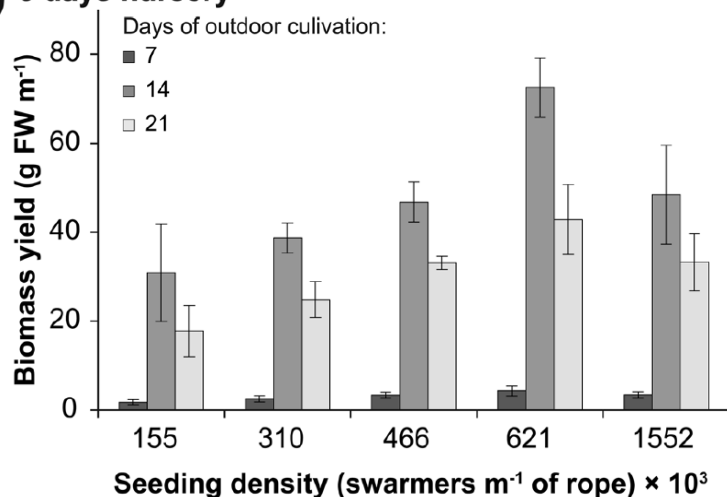
(například z výtoků akvakultur) pro vlastní výživu a tím redukovat množství rozpuštěných živin, které by unikaly do prostředí (Rasmussen *et al.*, 2011). K nejvíce využívaným metodám kultivace dnes patří kultivace na sítích. Jedná se o způsob, kdy se vypustí spory z přirozených populací rodu *Ulva* na ponořené síť (toho se docílí nějakým stresovým faktorem, zpravidla působením velmi nízké teploty (Rasmussen *et al.*, 2011), ale také například vysušením a následnou rehydratací), na které se pohyblivé zoospory uchytí a následně na nich vyrůstají celé nové stélky (viz. obr.č.9) (Li *et al.*, 2014). Tento způsob s sebou ale přináší jisté komplikace, a to se hlavně týká možnosti kontroly hustot nově vzniklých populací, ta je poměrně malá, protože se špatně ovlivňuje kolik zoospor se uchytí a kolik ne. Množství uchycených a dobře prosperujících spor závisí hodně na vnitrodruhové kompetici, čili jak moc si jednotlivé spory navzájem stíní a ochuzují se o živiny, také je důležitá správně dlouhá inkubační doba (tzv. „nursery period“) (Carl *et al.*, 2014). Studie na vláknitém druhu rodu *Ulva* se zabývala právě zjišťováním ideální inkubační doby, která byla stanovena na délku 5 dní, tato doba přinesla 2-6x vyšší výnosy, než když byly síť inkubovány delší či kratší dobu. Dále pak také stanovili nejvýhodnější hustotu osázení, která vyšla na 621 000 rozmnožovacích částic na metr lana. K inkubaci dochází na malých provazech v Petriho miskách uzavřených ve vnitřních prostorech, později jsou přeneseny do provzdušňovaných venkovních nádrží, kde dochází k vývinu stélek větších rozměrů. Kombinace nejlepší doby inkubace a hustoty zoospor také ukázala, jaká je nejvýhodnější doba venkovní kultivace, ta vyšla na 14 dní (viz. graf č. 2) (Carl *et al.*, 2014).



Obr.č. 9: Vývoj vláknitých stélek druhu *Ulva intestinalis* na nylonových sítích: a) 4. den po uchycení zoospor, b) po 1 týdnu, c) po 2 týdnech a d) po 3 týdnech, e-f) připevněné k nádrži s ústřicemi a podoba přirozené populace ve vodě (Li *et al.*, 2014).

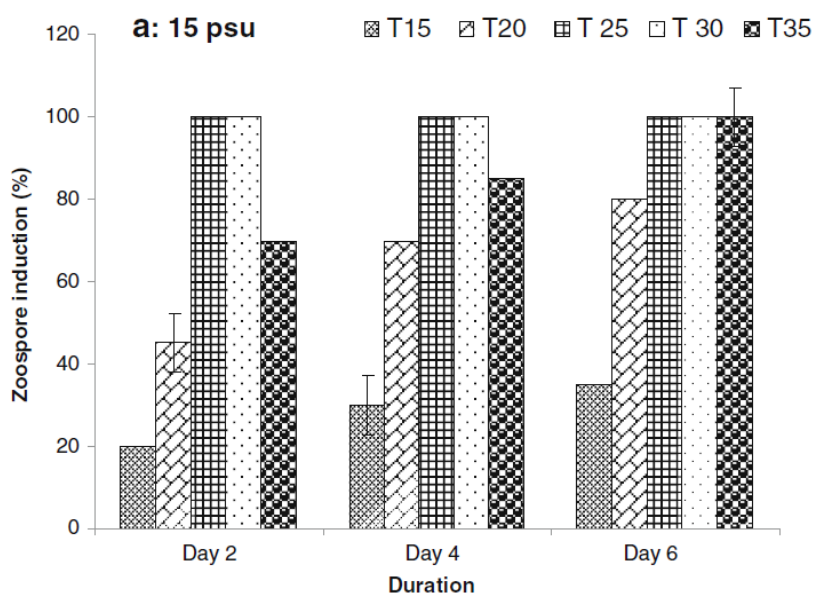
V další studii se zabývali také jakým způsobem kultivaci řas ovlivní změny teploty (testováno: 15, 20, 25, 30 a 35 °C) a salinity (testováno: 15, 20, 25, 30 PSU), což jsou velmi důležité faktory, které ovlivňují růst řas. Experimenty byly prováděny na druhu *Ulva fasciata* a byla zkoumána tři hlediska, kterými bylo množství uchycených zoospor, schopnost regenerace a rychlost růstu při různých uměle modifikovaných podmínkách. Ve výsledku bylo optimum pro uchycení zoospor stanoveno na salinitu odpovídající 15 PSU a při teplotě 25 °C, kdy se oproti kterékoli jiné kombinaci uchytilo 100 % všech zoospor už 2. den kultivace. Nejvyšší regenerace byla zaznamenána při 30 PSU a teplotě 25 °C a největší rychlost růstu také při 30 PSU a teplotě 25 °C. (viz. grafy č.3) (Mantri *et al.*, 2011).

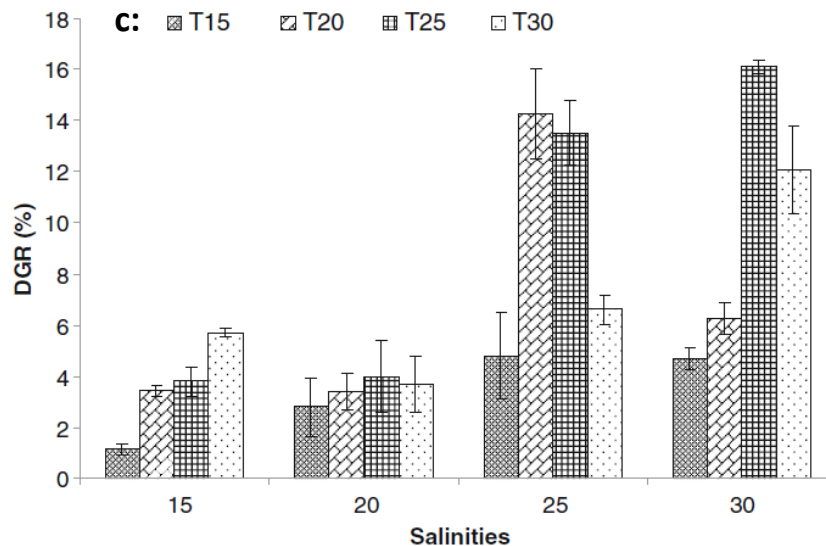
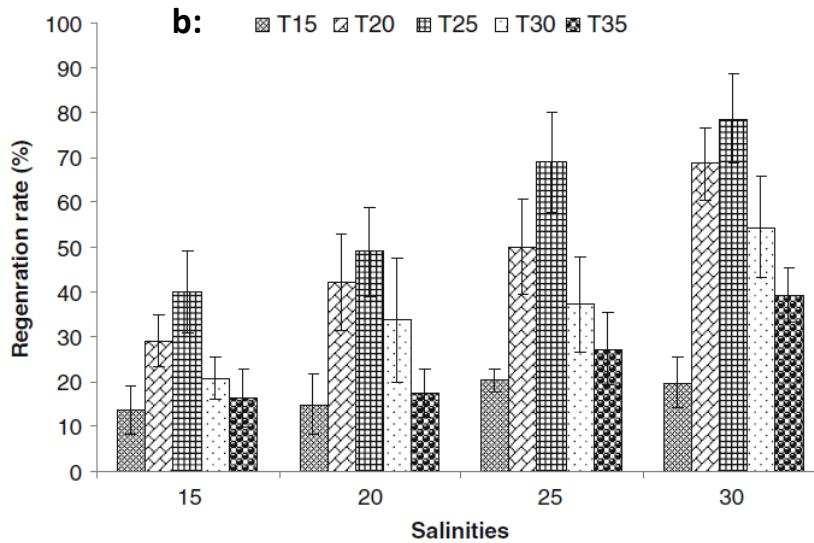
B) 5 days nursery



Graf č.2: Výtěžek čerstvé biomasy po 5 dnech inkubace (tzv. „nursery period“), různými odstíny šedé jsou označeny rozdílné počty dní venkovní kultivace a na ose x hustota uchycených rozmnožovacích částic (Carl *et al.*, 2014).

Grafy č. 3: Optimální hodnota salinity a teploty pro: a) uchycení zoospor, b) rychlost regenerace, c) rychlost růstu, výplň sloupců značí rozdílné teploty (°C) (Mantri *et al.*, 2011).





Ačkoli je kultivace řas rodu *Ulva* poměrně studovanou záležitostí, větší komerční produkce je stále problematická. Mezi hlavní problémy patří například nepředvídatelná sporulace, kdy se velké množství biomasy rozpadá a odumírá. To je proces ne moc dobře prozkoumaný, proto je složité ho předpovídat a kultivace je tím tedy do jisté míry ohrožena. Dalším problémem je také kultivace mořských druhů, které vyžadují přísun slané vody. Proto velká kultivační místa nacházíme jen v přímořských oblastech, jelikož jejich pěstování daleko od moře by bylo velmi nákladné (Nielsen *et al.*, 2012).

Zajistit co nejefektivnější a nejméně nákladnou kultivaci by pomohlo rozšířit využívání řas rodu *Ulva*, a to nejen jako zdroje potravy (viz. kapitola 6.1.), ale také jako zdroj bioplynu. Ten lze z řas získat zpravidla dvojitým způsobem, a to anaerobní fermentací, nebo pomocí termochemických přeměn, které zahrnují například přímé spalování, zplyňování a pyrolýzu.

Každopádně díky vysokému obsahu vody ve stélkách řas je daleko výhodnější využívat první metodu. Spalování je v tomto případě méně výhodné a to také z důvodu, že poté vzniká velké množství popela („ash“) a alkálií (zásad) (Bruhn *et al.*, 2011). Princip anaerobní fermentace (digesce) spočívá v mikrobiální přeměně (rozkladu) organického materiálu (biomasy řas) na bioplyn za nepřítomnosti vzduchu. Výsledný bioplyn se skládá především z methanu (CH₄), který zabírá cca 40–75 % a oxidu uhličitého (CO₂) toho je většinou kolem 25–55 %. Jedná se o dobrý znovuoobnovitelný zdroj energie, jak tepelné, tak elektrické (Demirbas *et al.*, 2010). Výtěžek methanu je dokonce potenciaálně vyšší u řas než u tradičně využívaných druhů plodin, každopádně vzhledem k limitacím, jakými jsou například špatný rozklad řasových sacharidů a sezonalita v produkci biomasy se zatím nepovedlo dosáhnout kýženého maximálního výnosu. Také je problémem vysoký obsah síry ve stélkách řas rodu *Ulva*, ten vede k obsahu H₂S ve vzniklém bioplynu, který se poté nedá přímo použít bez nějakých dalších úprav (Briand and Morand, 1997).

V rámci kultivace zástupců rodu *Ulva* by se dala použít ještě jejich schopnosti efektivně využívat živiny pro svůj růst. Jejich pěstování by tedy nemuselo sloužit pouze pro získání biomasy, ale také z hlediska bioremediace. Řasy by se daly potenciaálně využít hlavně v akvakulturách, například krevet, nebo ústřic, kde by sloužily jako biofiltrátoři odpadních výtoků (Li *et al.*, 2014). Bioremediační kapacita (založená na principu, že čím vyšší je koncentrace dusíku a fosforu v médiu, tím vyšší bude také jejich koncentrace ve stélce řas) druhu *U. lactuca* byla testována pomocí pěstování řas na neupraveném a anaerobně fermentovaném tekutém hnoji v porovnávání s klasicky užívanými médii. Hnoj se ukázal jako dostatečný zdroj živin, a to i bez přidavku dalších vitamínů apod. a to hlavně ten anaerobně fermentovaný, který se téměř shodoval s výsledky klasického kultivačního média s amoniakem jako zdrojem dusíku, u kterého byla bioremediační kapacita nejvyšší. Navíc v hnoji nebyly zjištěny žádné nebezpečné látky, které by nějakým způsobem snižovaly růst (Rasmussen *et al.*, 2011). Tím se potvrdil nadějný potenciál těchto řas pro strategie udržitelného nakládání s odpady a také možnost pomoci s vysokým stupněm eutrofizace některých ekosystémů (Li *et al.*, 2014).

6.3. Využití jako zdroj možných léčiv

Řasy a obecně mořské organismy jsou poměrně prozkoumané skupiny i z hlediska biomedicínského využití. Převážně u skupin Rhodophyceae a Phaeophyceae bylo nalezeno velké množství využitelných látek. Oproti nim jsou Chlorophyceae méně prozkoumanou skupinou a je potřeba se ještě více soustředit na jejich studium. I u nich však byly objeveny

některé specifické složky, které mají vysoký potenciál do budoucnosti jako případná léčiva. Dnes nejvíce zkoumanými z tohoto hlediska jsou polysacharidy řas a zjišťování jejich biologické aktivity (Smit, 2004). Jejich složení se liší od polysacharidů vyšších rostlin, obsahují totiž sulfátové skupiny a mají vysokou rozpustnost ve vodě, často mají až gelovitou strukturu a množství neobvyklých cukerných zbytků (Jensen, 1993). U zelených řas, včetně zástupců rodu *Ulva* se nachází specifický typ polysacharidů, tzv. ulvany. To jsou heteropolysacharidy buněčné stěny, které jsou dobře rozpustné ve vodě (Quemener *et al.*, 1997) a obsahují hlavně velké množství rhamnózy, kyseliny glukuronové a sulfátů (síranů), kromě toho také v menším množství i další cukry jako xylany, kyselinu iduronovou, galaktózu a glukózu (Robic *et al.*, 2009). V řasách zabírá cca 18 - 29 % z celkového množství přítomných sacharidů (Kaeffer *et al.*, 1999).

Díky svému specifickému složení a struktuře jsou ulvany potenciálně dobře využitelné v medicíně. Především byla zkoumána jejich antivirová aktivita, která byla zjištěna například u druhu *Ulva armoricana* proti herpes simplex viru I (Hardouin *et al.*, 2016) a nebo také u druhu *U. lactuca* proti viru chřipky (Ivanova *et al.*, 1994). Byla u nich objevena také antikoagulační (protisrážlivá) aktivita, a to konkrétně například u druhu *Ulva conglobata*, ulvany zde sloužily jako inhibitory trombinu, podobně jako heparin, což je tradičně používaný antikoagulant živočišného původu (Mao *et al.*, 2006). Obsah sulfátových skupin pomáhá také redukovat příliš velké množství triglyceridů v buňkách, může tedy fungovat na snižování počtu cholesterolu a tím chránit proti vzniku komplikací spojených s nadměrným obsahem tuku v těle. Jeho účinek byl prokázán na krysách, kde měl výrazný vliv na pokles hyperlipidemie. Také byla prokázána inhibice zvyšování LDL (typ lipoproteinů o nízké hustotě), které přenášejí cholesterol z jater do cév a může díky nim docházet až k ucpávání cév a tzv. ateroskleróze. Naopak zvyšuje množství HDL (lipoprotein o vysoké hustotě), který působí opačným způsobem než LDL a je tedy méně nebezpečný ve vyšších dávkách. Proto by měly ulvany i potencionální využití při léčbě nemocí spojených se zvýšeným obsahem tuků, případně proti obezitě (Sathivel *et al.*, 2008). Zajímavé je také, že někteří zástupci řas produkují i antibakteriální látky, a to s různou sezónní variabilitou. Tato aktivita byla pozorována i u druhu *Ulva lactuca* proti bakterii *Streptococcus aureus* a byl zjištěn vrchol produkce těchto látek během zimních měsíců, nejspíše z důvodu poklesu metabolické aktivity (maximum v zimě měly i jiné rody, jako například *Laminaria* a *Chondrus*). Jaký význam mají tyto látky přímo pro řasy je zatím málo prozkoumané, ale nejspíš se nejedná o příliš zásadní produkty, vzhledem k omezenému trvání jejich produkce (Hornsey and Hide, 1976). Dokonce mohou být řasy rodu *Ulva* užitečné i jako

antioxidanty, které zabraňují/omezují vznik kyslíkatých radikálů a to například díky obsahu fenolických látek (Ganesan *et al.*, 2011). Díky tomuto širokému spektru využití jsou ulvofytní řasy dobrým množným zdrojem bioaktivních látek z přírodních zdrojů využitelných v medicíně.

7. Závěr

Zabývat se využitelnými zástupci řas, jako rodem *Ulva*, má velký význam nejen díky jejich využití v potravinářství a výrobě bioplynu, ale také díky jejich ekologické roli. Jsou významnými bioindikátory eutrofizovaných vod a přítomnosti těžkých kovů. Mají velký potenciál jako biofiltrátoři odpadních vod v akvakulturách, s velkou bioremediační kapacitou a také jsou potenciálně využitelným zdrojem bioaktivních látek využitelných v lékařství. Jsou ale i zajímavým experimentálním organizmem pro svůj typický vývojový cyklus, dvojí typ morfologie a také častou tvorbu mutantních forem. Velmi zajímavá je i jejich schopnost interagovat se symbiotickými bakteriemi, které mají významný vliv na celkový vývoj klasické morfologie těchto řas.

8. Reference:

- Rybak A. S. (2015): Revision of herbarium specimens of freshwater *Enteromorpha*-like *Ulva* (Ulvaceae, Chlorophyta) collected from Central Europe during the years 1849–1959. *Phytotaxa*, 218(1): 1–29.
- Armstrong E., Rogerson A. and Leftley J. W. (2000): Utilisation of seaweed carbon by three surface-associated heterotrophic protists, *Stereomyxa ramosa*, *Nitzschia alba* and *Labyrinthula* sp. *Aquatic Microbial Ecology*, 21(1): 49–57.
- Bijo A. J., Jha B., Kumari P., Mantri V.A., Reddy C. R. K., Singh R. P. (2010): Differential response of varying salinity and temperature on zoospore induction, regeneration and daily growth rate in *Ulva fasciata* (Chlorophyta, Ulvales), *Journal of Applied Phycology*, 23(2): 243–250.
- Blindow I., Cox E., De Clerk O., De Reviere B., Hofbauer W., Kawai H., Leliaert F., Lopez-Bautista J., Nakayama T., Neustupa J., Rousseau F., Schudack M. and Silberfeld T. (2014): Engler's syllabus of plant families, part 2/1: Photoautotrophic eukaryotic Algae: Glaucocystophyta, Cryptophyta, Dinophyta/Dinzoa, Haptophyta, Heterokontophyta/Ochromyxa, Chlorarachniophyta/Cercozoa, Euglenophyta/Euglenozoa, Chlorophyta, Streptophyta p.p. 13th ed. Stuttgart: Gebr. Borntraeger Verlagsbuchhandlung.
- Briand X. and Morand P. (1997): Anaerobic digestion of *Ulva* sp. 1. Relationship between *Ulva* composition and methanisation. *Journal of Applied Phycology*, 9(6): 511–524.
- Bruhn A., Dahl J., Jensen P. D., Markager S., Nielsen H. B., Nikolaisen, L., Ramunssen M. B. (2011): Bioenergy potential of *Ulva lactuca*: Biomass yield, methane production and combustion. *Bioresource Technology*. 102(3): 2595–2604.
- Bryhni, E. (1974): Genetic control of morphogenesis in the multicellular alga *Ulva mutabilis*. Defect in cell wall production. *Developmental Biology*, 37(2): 273–279.
- Carl C., De Nys R. and Paul N. A. (2014): The seeding and cultivation of a tropical species of filamentous *Ulva* for algal biomass production. *Plos One*, 9(6).
- Chakraborty S., Bhattacharya T., Maity J. P., Singh G. (2014): Benthic macroalgae as biological indicators of heavy metal pollution in the marine environments: A biomonitoring approach for pollution assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 100(1): 61–68.
- Demirbas A. and Demirbas M. (2010). 'Algae energy: Algae as a New Source of Biodiesel'. London: Springer. 199 p.
- Domozych D. S., Ciancia M., Fangel J. U., Mikkelsen M.D., Ulvskov P., Willats W. G. T. (2012): The Cell Walls of Green Algae: A Journey through Evolution and Diversity. *Frontiers in Plant Science*, 3(May): 1–7.
- Fang, L., Leliaert F., Liu G., Novis P. M., Penny D., Zhang Z., Zhong B. (2018): Improving phylogenetic inference of core Chlorophyta using chloroplast sequences with strong phylogenetic signals and heterogeneous models. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Elsevier, 127: 248–255.

- Fleurence J. (1999): Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science & Technology*. 10(1): 25-28.
- Fries L. and Åberg S. (2013): Morphogenetic effects of phenylacetic and p-OH-phenylacetic acid on the green alga *Enteromorpha compressa* (L.) GREV. in Axenic Culture. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. 88(5): 383–388.
- Fučíková K., Cooper E. D., De Clerck O., Delwiche Ch. F., D'Hondt S., Gurgel C. F. D., Leliaert F., Lewis P. O., Lewis L. A., Lopez-Bautista J. M., Škaloud P., Verbruggen H. (2014): New phylogenetic hypotheses for the core Chlorophyta based on chloroplast sequence data. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 2: 1–12.
- Ganesan K., Kumar K. S. and Rao P. V. S. (2011): Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, *Enteromorpha* from Okha, Northwest coast of India. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. Elsevier Ltd. 12(1): 73–78.
- Guidone M., O'Kelly Ch. J., Thornber C., Wysor B. (2013): Molecular and morphological diversity of Narragansett Bay (RI, USA) *Ulva* (Ulvales, Chlorophyta) populations. *Journal of Phycology*. 49(5): 979–995.
- Hardouin K., Bedoux G., Bergé J. P., Bourgougnon N., Collén P. N., Donnay-Moreno C. (2016): Enzyme-assisted extraction (EAE) for the production of antiviral and antioxidant extracts from the green seaweed *Ulva armoricana* (Ulvales, Ulvophyceae). *Algal Research*. Elsevier B.V. 16: 233–239.
- Hayden H. S., Blomsten J., Maggs Ch. A., Silva P. C., Stanhope M.J., Waaland R. (2003): Linnaeus was right all along: *Ulva* and *Enteromorpha* are not distinct genera. *European Journal of Phycology* 38(3): 277–294.
- Hayden H. S. and Waaland J. R. (2002): Phylogenetic systematics of the Ulvaceae (Ulvales, Ulvophyceae) and the genus *Ulva* L. using on chloroplast and nuclear sequences. *J. Phycol.* 1212(38): 1200–1212.
- Hornsey I. S. and Hide D. (1976): The production of antimicrobial compounds by british marine algae ii. Seasonal variation in production of antibiotics. *British Phycological Journal* 11(1): 63–67.
- Hurd C. L., Bischof K. and Harrison P. (2014): *Nutrients. Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge: Cambridge University Press: 238–293.
- Ivanova V., Kolarova M., Manolova N., Rachev R., Rouseva R., Serkedjieva J. (1994): Isolation of a polysaccharide with antiviral effect from *Ulva lactuca*. *Preparative Biochemistry*. 24(2): 83–97.
- Jensen A. (1993): Present and future needs for algae and algal products. *Hydrobiologia*. 260–261(1): 5–23.

- Joint I. (2002): Cell-to-cell communication across the prokaryote-eukaryote boundary. *Science*. 298(5596): 1207–1207.
- Kaeffer B., Lahaye M. and Cherbut C. (1999): Biological properties of ulvan, a new source of green seaweed sulfated polysaccharides, on cultured normal and cancerous colonic epithelial cells. 65(6): 527–531.
- Kaštovský J., Bešta T., Desortová B., Hauer T., Heteša J., Hindáková A., Houk V., Janeček E., Komárek J., Kopp R., Krautová M., Mareš J., Marvan P., Skácelová O., Zapomnělová E. (2010): A review of the alien and expansive species of freshwater cyanobacteria and algae in the Czech Republic. *Biological Invasions*. 12(10): 3599–3625.
- Leliaert F. and Lopez-Bautista J. M. (2015): The chloroplast genomes of *Bryopsis plumosa* and *Tydemania expeditiones* (Bryopsidales, Chlorophyta): Compact genomes and genes of bacterial origin. *BMC Genomics*. 16(1): 1–20.
- Li J., Kangas P. and Terlizzi D. E. (2014): A simple cultivation method for Chesapeake Bay *Ulva intestinalis* for algal seed stock. *North American Journal of Aquaculture*. 76(2): 127–129.
- Liu D., He P., Keesing J. K., Shi Y., Wang Y., Wang Z. (2013): The world's largest macroalgal bloom in the Yellow Sea, China: Formation and implications. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. Elsevier Ltd. 129: 2–10.
- MacArtain P., Brooks M., Campbell R., Gill Ch. I. R., Rowland I. R. (2007): Nutritional value of edible seaweeds. *Nutrition Reviews*. 65(12): 535–543.
- Maggs C. A., Blomster J., Hansen G., Leskinen E., Mann D. G., Sluiman H. J., Stanhope M. J., Tan I. H. (2012): Molecular phylogenetic evidence for a reversible morphogenetic switch controlling the gross morphology of two common genera of green seaweeds, *Ulva* and *Enteromorpha*. *Molecular Biology and Evolution*. 16(8): 1011–1018.
- Mantri V. A., Bijo A. J., Jha B., Kumari P., Reddy C. R. K., Singh R. P. (2011): Differential response of varying salinity and temperature on zoospore induction, regeneration and daily growth rate in *Ulva fasciata* (Chlorophyta, Ulvales). *Journal of Applied Phycology*. 23(2): 243–250.
- Mao W., Li J., Zang X., Zhang H. (2006): Sulfated polysaccharides from marine green algae *Ulva conglobata* and their anticoagulant activity. *Journal of Applied Phycology* 18(1): 9–14.
- Mareš J., Blomster J., Leskinen E., Sitkowska M., Skácelová O. (2011): True identity of the european freshwater *Ulva* (Chlorophyta, Ulvophyceae) revealed by a combined molecular and morphological approach. *Journal of Phycology*. 47(5): 1177–1192.
- Marshall K., Callow J. A., Callow M. E., Joint I. (2006): Effect of marine bacterial isolates on the growth and morphology of axenic plantlets of the green alga *Ulva linza*. *Microbial Ecology*. 52(2): 302–310.

- Nisizawa K., Kikuchi R., Noda H., Watabe T. (1987): The main seaweed foods in Japan. *Hydrobiologia*. 151–152(1): 5–29.
- Patel P., Callow J. A., Callow M. E., Joint I. (2003): Specificity in the settlement - Modifying response of bacterial biofilms towards zoospores of the marine alga *Enteromorpha*. *Environmental Microbiology*. 5(5): 338–349.
- Provasoli L. (2007): Effect of plant hormones on *Ulva*. *The Biological Bulletin*. 114(3): 375–384.
- Qu T., Tang X., Wang Y., Xiao H., Zhao X. (2016): A comparative study of the photosynthetic capacity in two green tide macroalgae using chlorophyll fluorescence. SpringerPlus. Springer International Publishing. 5(1).
- Quemener B., Lahaye M. and Bobin-Dubigeon C. (1997): Sugar determination in ulvans by a chemical-enzymatic method coupled to high performance anion exchange chromatography. *Journal of Applied Phycology*. 9(2): 179–188.
- Rasmussen M. B., Bruhn A., Larsen M. M., Moller H. B., Nielsen M. M., Olesen B. (2011): Cultivation of *Ulva lactuca* with manure for simultaneous bioremediation and biomass production. *Journal of Applied Phycology*. 24(3): 449–458.
- Reed R. H. and Russell G. (1978): Salinity fluctuations and their influence on “bottle brush” morphogenesis in *enteromorpha intestinalis*. *British Phycological Journal*. 13(2): 149–153.
- Rindi F., Boedeker C., Leliaert F. and Škaloud P. (2018): *Freshwater Flora of Central Europe, Chlorophyta: Ulvophyceae (Süßwasserflora von Mitteleuropa, Chlorophyta: Ulvophyceae)*. 13th ed. Berlin: Springer Spektrum.
- Robic A., Bertrand D., Lahaye M., Lerat Y., Sassi J. F. (2009): Determination of the chemical composition of ulvan, a cell wall polysaccharide from *Ulva* spp. (Ulvales, Chlorophyta) by FT-IR and chemometrics. *Journal of Applied Phycology*. 21(4): 451–456.
- Rouxel C., Bonnabeze E., Daniel A., Etienne M., Fleurence J., Jérôme M. (2001): Identification by SDS PAGE of green seaweeds (*Ulva* and *Enteromorpha*) used in the food industry. *Journal of Applied Phycology*. 13(3): 215–219.
- Rybak A., Czerwoniec A., Gąbka M. and Messyasz B. (2014): *Ulva flexuosa* (Ulvaceae, Chlorophyta) inhabiting inland aquatic ecosystems: molecular, morphological and ecological discrimination of subspecies. *European Journal of Phycology*. 49(4): 471–485.
- Rybak A. S. (2018): Species of *Ulva* (Ulvophyceae, Chlorophyta) as indicators of salinity. *Ecological Indicators*. 85: 253–261.
- Rybak A. S. and Gąbka M. (2018): The influence of abiotic factors on the bloom-forming alga *Ulva flexuosa* (Ulvaceae, Chlorophyta): possibilities for the control of the green tides in freshwater ecosystems. *Journal of Applied Phycology*. 30(2): 1405–1416.

- Sathivel A., Devaki T., Raghavendran H. R. B., Srinivasan P. (2008): Anti-peroxidative and anti-hyperlipidemic nature of *Ulva lactuca* crude polysaccharide on d-Galactosamine induced hepatitis in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 46(10): 3262–3267.
- Sharma M., Garg H. S. and Chandra K. (2009): Erythro-sphinga-4,8-dienine-N-palmitate: An Antiviral Agent from the Green Alga *Ulva fasciata*. *Botanica Marina*. 39(1–6): 213–215.
- Shizuri Y., Imagawa H., Iyenaga T., Kurisaki T., Matsuo Y., Namba K., Sharfuddin M., Shizuri Y. (2007): Total synthesis and morphogenesis-inducing activity of (±)-thallusin and its analogues. *Tetrahedron Letters*. 48(24): 4229–4233.
- Simopoulos A.P. (2002): The importance of the ratio of omega-6 / omega-3 essential fatty acids. 56: 365–379.
- Smetacek V. and Zingone A. (2013): Green and golden seaweed tides on the rise. *Nature*. 504(7478): 84–88.
- Smit A. J. (2004): Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. *Journal of Applied Phycology*. 16(4): 245–262.
- Stratmann J., Bachhuber T., Oertel W., Stratmann J. (2012): Growth and Thallus Morphogenesis of *Ulva mutabilis* (Chlorophyta) Depends on A Combination of Two Bacterial Species Excreting Regulatory Factors. *Journal of Phycology*. 48(6): 1433–1447.
- Stratmann J., Paputsoglu G. and Oertel W. (1996): Differentiation of *Ulva mutabilis* (Chlorophyta) gametangia and gamete release are controlled by extracellular inhibitors. *Journal of Phycology*. 32(6): 1009–1021.
- Tabarsa M., Ramenzanpour Z., Rezaei M., Waaland J. R. (2012): Chemical compositions of the marine algae *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta) and *Ulva lactuca* (Chlorophyta) as a potential food source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92(12): 2500–2506.
- Taboada C., Millán R. and Míguez I. (2010): Composition, nutritional aspects and effect on serum parameters of marine algae *Ulva rigida*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 90(3): 445–449.
- Taylor R., Fletcher R. L. and Raven J. A. (2001): Preliminary studies on the growth of selected “green tide” algae in laboratory culture: Effects of irradiance, temperature, salinity and nutrients on growth rate. *Botanica Marina*. 44(4): 327–336.
- Tujula N. A., Burke C., Crocetti G. R., Holmstrom C., Kjelleberg S., Thomas T. (2010): Variability and abundance of the epiphytic bacterial community associated with a green marine Ulvacean alga. *ISME Journal*. 4(2): 301–311.
- Wichard T. (2015): Exploring bacteria-induced growth and morphogenesis in the green macroalga order Ulvales (Chlorophyta). *Frontiers in Plant Science*. 6: 1–19.

Wichard T., Bothwell J. H., Coates J. C., Charrier B., De Clerck O., Mineur F. (2015): The green seaweed *Ulva*: a model system to study morphogenesis. *Frontiers in Plant Science*. 6: 1–8.

Wolf M. A., Andreoli C., Moro I., Sciuto K. (2012): *Ulva* (Chlorophyta, Ulvales) Biodiversity in the North Adriatic Sea (Mediterranean, Italy): Cryptic Species and New Introductions. *Journal of Phycology*. 48(6): 1510–1521.

Ye, N., De Clerck O., Engelen A. H., Leliaert F., Malta E. J., Mineur F., Verbruggen H., Zhang X. (2009): Identity of the Qingdao algal bloom. *Phycological Research*. 57(2): 147–151.