

Oponentský posudek na bakalářskou práci Miroslava Kloze

Název: Interferometric measuring of volume changes of photosynthesizing and non-photosynthesizing samples

Školitel: RNDr. Karel Roháček CSc.

Bakalářská práce pana Kloze se věnuje vývoji a zdokonalování interferometrické metody měření fotosyntetických procesů *in vivo*. Těžištěm práce je vývoj a testování interferometru Michelsonova typu, zejména jeho modifikace za účelem měření mikrometrických změn velikosti studovaných vzorků. Práce jednoznačně ukazuje na velmi dobré schopnosti autora jak v oblasti technické (např. navržení a zkonstruování „přenosky“ pro měření na pevných vzorcích) tak i v oblasti softwarové (sepsání programu na zpracování měřeného signálu). Práce jak svým rozsahem tak i obsahem dle mého názoru výrazně převyšuje požadavky na bakalářskou práci a blíží se spíše práci diplomové.

Z formálního hlediska je třeba jednoznačně vyzvednout autorovo rozhodnutí sepsat práci v anglickém jazyce, jelikož dosažené výsledky jsou přístupné mnohem širšímu okruhu potenciálních čtenářů, což, zejména v případě že se tato metoda ukáže jako vhodná pro studium fotosyntetizujících vzorků, může hrát důležitou roli v procesu rozšiřování této metody na další pracoviště. Práce neobsahuje žádné závažné formální nedostatky, členění práce na jednotlivé kapitoly, zpracování a popis obrázků i reference odpovídají stylu standardní vědecké publikace. Drobné formální nedostatky se však přesto vyskytují. Např. přechod mezi rovnicemi 1 a 3 je problematický, jelikož veličina E_A v rovnicích 1 a 2 (celková energie pohlcená rostlinou) není totéž co veličina E_A v rovnici 3 (nezpracovaná energie uložená v anténních systémech). Podobný problém se vztahuje k obrázku 3, který dává do souvislosti pohyb zrcadla a intenzitu signálu. Na obrázku 3 je intenzita signálu vynesena v závislosti na čase, který se v rovnici 9 nevyskytuje. V popisu k obrázku 3 by bylo vhodnější zavést veličiny „optical path“ a „mirror displacement“, které se běžně používají k popisu interferenčních jevů namísto poněkud těžkopádného vysvětlování rozdíku mezi $\lambda/2$ a $\lambda/4$. Rovněž je možné vytknout poněkud netypické popisy časových intervalů. Pro označení intervalů mezi zapnutím a vypnutím aktinického světla by bylo vhodné používat označení např. $t_{ON}=300$ s, $t_{OFF}=600$ s (viz např. strana 18). Tyto nedostatky nijak nesnižují kvalitu práce, ale pokud se autor dostane k publikování prací v mezinárodních vědeckých časopisech, je třeba na tyto zdánlivé maličkosti myslet.

Po obsahové stránce práci taktéž nelze příliš vytknout. Práce je napsána jako poutavé vyprávění o cestě k dokonalému interferometru schopného měřit fotosyntetické vzorky *in vivo*. Nelze než ocenit autorovu upřímnost v popisu chyb a nedostatků, která v některých případech zachází až do extrémů (např. str. 28, „Interpretations of all obtained results can show itself as wrong“). V případě publikování v seriózních vědeckých časopisech bude třeba ukázat poněkud vyšší míru optimismu, jelikož tato věta by zcela jistě vedla k zamítnutí publikace. Autor by se měl během obhajoby vyjádřit k následujícím problémům:

1. V úvodu autor zdůrazňuje, že hlavním cílem interferometru je studovat „termální disipaci absorbovaného světla“. Pominu-li fakt, že disipovat nelze světlo, ale pouze energii předanou systému fotony, stále zůstává problém jak oddělit procesy spojené s disipací energie (E_T v rovnici 1) a procesy spojené s fotochemií (E_P). Fotochemické procesy vedou k výměně plynů (vývoji kyslíku a pohlcování CO_2), což jsou děje, které budou rovněž přispívat k expanzi či smršťování studovaného vzorku. Je tedy opravdu možné touto metodou určit veličinu E_T jak autor naznačuje v poslední větě sekce 2.2. nebo v posledním odstavci sekce 2.3.? Je vůbec technicky možné oddělit příspěvky od veličin E_T a E_P ?
2. V sekci 3.3.2. autor uvádí, že k ozařování vzorku byla použita halogenová lampa o příkonu 150 W. Tato lampa ale rovněž vytváří teplo, které nutně musí ovlivňovat měření. Jakým způsobem je eliminován vliv tepelného záření zdroje světla?

3. Srovnání fotosyntetizujícího vzorku se vzorkem ovlivněným FCCP poukazuje na to, že metoda je skutečně citlivá na fotosyntetickou aktivitu vzorku. Jak lze vysvětlit intenzivnější expanzi vzorku ovlivněného FCCP? Lze nějak rozumně vysvětlit výrazně odlišné chování FCCP vzorku po vypnutí světla v uzavřené a otevřené kyvetě (obr. 16 a 17)?
4. Autor v práci nespecifikuje parametry He-Ne laseru, na str. 13 pouze uvádí pojmy „intensive measuring laser beam“ případně „laser beam was strong enough to overheat or damage the plant tissue“. Základní fyzikální zákony říkají, že foton odražený od zrcadla předává hybnost zrcadlu. U laserového záření je známo, že při vysoké hustotě fotonů, které jsou navíc koherentní a monochromatické, může docházet k makroskopickému jevu zvanému tlak záření. Může tento jev nějak ovlivnit výsledky měření na zařízení studovaném v této práci?

Podle mého názoru bakalářská práce pane Kloze splňuje, a v některých oblastech i výrazně přesahuje, všechny podmínky kladené na bakalářskou práci a proto doporučuji, aby byla přijata k obhajobě s hodnocením výborně.

V Nových Hradech 3. června 2007



prof. RNDr. Tomáš Polívka, PhD.

Posudek bakalářské diplomové práce

Miroslav Kloz:

Interferometric measuring of volume changes of photosynthesizing and non-photosynthesizing samples

Bakalářská práce Miroslava Kloze se zabývá problémem konstrukce a primárního testování interferometru. Nosným tématem je odhalování nejrůznějších artefaktů a vylepšování aparatury, aby se vůbec dala použít k měření, k získání nových, dosud nepublikovaných informací, ať už v oboru fotosyntézy (nefotochemické zhášení fluorescence), či v jiných příbuzných oborech (vodní provoz rostlin, fyziologie, resp. stresová fyziologie rostlin).

Je třeba zdůraznit, že metoda je nejen v oboru fotosyntézy, ale vůbec biologii, metodou „neznámou“, že po stránce hledání informací o tomto tématu nebylo nic zanedbáno, že nebylo objeveno objevené apod. Literární přehled je zpracován vyčerpávajícím způsobem i když čítá jen 11 položek. K tomuto bodu mohu jen podotknout, že jsem v části 7. (References) nenašel odkaz Hamed 1998. Dále pak namátkou jsou objevil chybu u publikace Schreiber, Schliwa, Bilger Photosynth. Res 10:51-62, která je tak často citována, že znám z paměti rok vydání – 1986, v diplomové práci je chybně uvedeno 1988.

K vlastnímu citování prací bych snad, čistě z pedagogického hlediska, měl se zmínit, že obecně známé fakta se obvykle necitují, tj. necitujeme informace, které jsou třeba na úrovni znalostí středoškolských. Pokud citujeme, pak bychom měli citovat primární zdroj informace. V tomto smyslu není dobré na str. 10 citovat Feynmanovu učebnici fyziky a pokud problém intenzity jako skalární součin vektorů E vyžaduje citaci, pak citovat klasiky: I. Newtona, J.C. Maxwella atd. atd.

Práce je vypracována v angličtině. Necítím se za odborníka, abych mohl posoudit jazykovou stránku rezolutně. Nicméně až na malé výjimky se mi zdála srozumitelná. Chyb jsem našel opravdu poskromnu, např. str. 21, 2.řádek pod obr.14: má být „a leaf“ místo „a leave“, snad někde mi chybělo zástupné slůvko „one“, jedinkrát jsem snad ve 3. os. č. jedn. nenašel „-s“ u slovesa ve větě, jen vyjíměčně jsem našel překlep nebo snad vůbec nenašel. Místo „The transferring device was made by me of wooden skewers“ bych doporučoval spíše rod činný „I have constructed the device from wooden skewers“, str. 14. Vadí mi trochu 1. os. **mn.č.:** „My, král český a císař římský, vyneseme teď rozsudek ...“, u práce, kde je jediný autor, to nevypadá korektně, i v případě, kdy je vidět nadmíru vysoká kultivovanost ohledně autorství (např. str. 15 1. věta, kdy i držák vzorku je citován, že byl vyvinut školitelem). Autor práce striktně rozlišuje v textu, co je jeho vlastní práce a co převzal z literatury či co mu poradili např. kolegové na EntÚ. Vřele doporučuji používat v těchto případech 1. os. **jedn. čísla**. Celkově bych však hodnotil jazykovou stránku diplomové práce velmi dobře.

K části 3 (Methods) bych v první řadě ocenil a) technickou zručnost autora, b) schopnost jednoduše a logicky načrtnout schémata technických vylepšení aparatury. U měření kapalných vzorků postrádám, kde byl veden „aktinický“ paprsek kyvetou. Dále ani u kapalných vzorků, ani u např. vzorků barevných papírů jsem se nikde nedočel, alespoň řádově, jaká byla intenzita světla, kterou se ohříval vzorek.

K výsledkům a jejich interpretaci mám námitku k obr. 20, kde se zdá, že při paralelním měření fluorescence a interference je časová osa posunuta při zapnutí světla. I v případě, že to bylo způsobeno ručním zapínáním (či pomaleji jdoucími hodinami u jednoho z přístrojů, vypnutí světla „sedí“!), doporučoval bych toto odstranit; takto to jen mate čtenáře. Dále se domnívám, že 2.3 Energy dissipated as heat (první odstavec) není dobře sepsán s ohledem na „buffering effect“. To, co autor zde kritizuje jako nevýhodu jiných metod, pak sám přiznává ve výsledcích svých a v druhé části 6. Conclusion, jako nevýhodu metody interferenční.

Z tohoto důvodu se domnívám, že úvodní část bylo možno sepsat „šikovněji“, příp. porovnat, co by se dalo očekávat od jiných metod (metody, kde se skenuje povrchová teplota či snímá infračervená emise z povrchu) a jaké by v nich byly (zřejmě neřešitelné) problémy.

Výsledků se také týkají dva mé dotazy:

1. Na obr. 11 ve stopě týkající se ohřevu bílého papíru je zhruba u času 340-350 sekund výrazný „skok“. Zajímalo by mne detekční limit rychlosti posunu, dále by mne zajímalo, zda tento skok byl v měřeních reprodukovatelný. Nebo zda se v jiném čase objevil, objevoval u takovýchto vzorků, apod. Já bych doporučoval takováto měření nepublikovat, resp. v případě reprodukovatelnosti je dobré toto zdůvodnit.

2. Na str. 23 je podle mého názoru neadekvátní zmínka o zablokování reakčních center pomocí uncoupleru FCCP (zkratka FCCP není nikde v diplom.práci vysvětlena!). Poprosil bych buď v průběhu obhajoby nebo v čase určeném na dotazy oponentů uvést toto na pravou míru a vysvětlit efekt takovýchto látek na thylakoidní, příp. mitochondriální či bakteriální membránu.

Jiných dotazů nemám.

Práci navrhuji hodnotit stupněm 2.



RNDr. Milan Durchan, CSc.

Ústav molekulární biologie rostlin, BC, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice