

Roční průběh základních fluorescenčních parametrů dvou stálezelených rostlin

Oponent: *RNDr. Karel Roháček, CSc.*

Biologické centrum AV ČR, v.v.i. / Ústav molekulární biologie rostlin
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

Bakalářská práce *Silvie Svidenské* je zaměřena na studium změn fotosyntetické účinnosti asimilačního aparátu u dvou zástupců stálezelených vyšších (C3) rostlin – smrku *Pančičova* (*Picea omorica*) a rododendronu (*Rhododendron x hybridum*) – v průběhu celého roku, tj. jak v období vegetační aktivity a vegetačního klidu (stavu dormance), tak v jarní a podzimní přechodové fázi. Hlavním cílem práce bylo celoroční monitorování změn rychlosti asimilace CO_2 (A), změn hodnot dvou výtěžků fluorescence chlorofylu vztahujících se k temnotně adaptovanému stavu jehlic, resp. listů sledovaných dřevin (F_0 a F_M) a dvou fluorescenčních parametrů (F_v/F_M a NPQ). Navazujícím úkolem bylo ověřit, zda mezi uvedenými parametry a základními fyzikálními parametry vnějšího prostředí (ambientní teplotou a ozářeností) je přímá souvislost.

Téma práce je zajímavé z biofyzikálního i rostlinně fyziologického hlediska a velmi dobře souvisí s odborným zaměřením školitelky a jejího vědeckého pracoviště v Nových Hradech. Cíl i úkoly práce jsou jasně formulovány (byť nejsou uvedeny v úvodu práce, ale v anotaci a výsledcích), text je srozumitelně napsán, přehledně členěn do 6 částí a svědčí o zaujetí diplomantky studovanou problematikou. Svou bakalářskou práci vypracovala v rozsahu 27 stran, obsahuje 19 obrázků, seznam v textu se vyskytujícími zkratkami a 16 literárních odkazů. K jednotlivým částem práce mám následující připomínky, doplňky a dotazy:

1. část (Úvod)

Tato část je pěkně, stručně napsána a podává dostatečný přehled o studované problematice. Myslím si však, že úvod by měl obsahovat vedle nezbytného přehledu výchozích teoretických a experimentálních poznatků taktéž formulace cílů a úkolů práce. Podkapitoly 1.2.2. a 1.2.3. patří svým obsahem až do následující - metodické - části. Rovnice v textu se neoznačují jako obrázky (obr. 1, str. 4), nýbrž se číslují při pravém okraji ve vzestupném pořadí. Definiční vztahy uváděné v textu (str. 10) spadají rovněž do tohoto číslování, neboť pak se na ně lze odvolávat a není třeba je znovu uvádět (str. 12). Namísto "Calvinův cyklus" doporučuji v souladu s autorstvím používat termín "Calvinův-Bensonův cyklus". Základem porfyrinu nejsou "čtyři tetrapyroly" (str. 5), nýbrž jeden, tj. do kruhu propojené čtyři pyroly. Kation Mg^{2+} není v porfyrinovém kruhu vázán "komplexně" (str. 5), nýbrž přes kovalentně konjugované vazby. Místo "pool plastochinonů" (str. 7) je vhodnější užít "plastochinonový zásobník". Tvrzení na str. 9 je podpořeno citací práce autorů "Šebánek a kol. 1998", ta ale není uvedena v seznamu použité literatury. Parametr $\Phi_{\text{P}0}$ (str. 10) je definován i pojmenován chybně.

Otázka k obr. 3 a textu na str. 6: Účastní se elektronového transportu kromě PQH_2 a Pc ještě jiný mobilní přenašeč elektronů? Jakým způsobem se přenáší excitace z periferních chlorofylů do reakčního centra PS II/PS I a k čemu je využita?

Otázka k textu na str. 7: Jaká je cesta molekulárního kyslíku z oblasti kyslík vyvíjejícího komplexu (OEC) do prostředí vně rostliny? Opravdu "difunduje do atmosféry"?

Otázka k textu na str. 8: Objasněte stručně xantofylový cyklus. Co je hlavním zhášečem fluorescence a původcem NPQ v tomto cyklu?

2. část (Materiál a metody)

V této dvoustránkové pasáži jsou velmi stručně popsány sledované rostliny a metody měření kinetiky indukované fluorescence a rychlosti asimilace CO_2 . Předpokládám, že při vlastní obhajobě práce autorka podrobněji objasní způsob odběru i transportu vzorků (celé větvičky nebo jednotlivé listy?), uspořádání měřicího stanoviště (dosažení venkovní teploty), dobu trvání měřicího cyklu (3 vzorky od každé dřeviny odebrány a měřeny naráz nebo postupně?) a volbu měřicího protokolu. Hodnoty aktinického i saturujícího záření jsou dosti nízké, délka světelné/aktinické fáze (90 s, str. 12) podle mé zkušenosti nestačí k dosažení fotosynteticky ustáleného stavu (F_s), neboť C.-B. cyklus ještě "nepracuje" (poločas aktivace RubPCO po předchozí temnotní fázi činí cca. 2-4 min).

3. část (Výsledky)

Rozsahem nejobsáhlejší část práce (10 stran) obsahuje velmi zajímavá zjištění a původní experimentální data. Měření časových průběhů absolutních hodnot fluorescenčních výtěžků je, z mého pohledu, diskutabilní, neboť měřené hodnoty může ovlivnit nejen fyziologický stav vzorků předcházející odběru (např. inhibiční venkovní ozáření nebo naopak vytrvalý déšť), ale i vlastní měření ve FluorCamu (např. geometrický faktor). Vyšší vypovídací hodnotu mají až na jejich základě stanovené fluorescenční parametry. Proto je potěšující, že autorka prokázala velmi těsnou souvislost všech 5 měřených parametrů (A , F_0 , F_M , F_0/F_M , NPQ), viz obr. 9, 13 a 14, s ročními průběhy venkovní teploty a viditelné radiace, viz obr. 7 a 8. Z vlastní zkušenosti soudím, že záporné hodnoty parametru NPQ (diskutováno na str. 19) jsou způsobeny změnou výtěžku F_0 v průběhu indukční fáze, jako důsledek silného stresu (např. reakce na akutní vodní stres). Z grafů průběhu závislosti NPQ na stanovištní ozáření (obr. 17-18, str. 22) soudím, že od úrovně FAR cca $500 \mu\text{mol}_{\text{hv}} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ docházelo u rododendronu a stinných jehlic smrku k fotoinhibici fotosyntézy, projevující se odklonem od lineární závislosti, která je zřetelná u slunných jehlic, adaptovaných na vyšší ozáření.

Otázka k obr. 9, str. 15: Co to znamená, když naměřené hodnoty rychlosti asimilace CO_2 u rostliny jsou záporné? Běží ještě lineární elektronový transport?

Otázka k obr. 10-12 na str. 16: Jsou uváděné indukční křivky výsledkem integrace fluorescenčního signálu z celé ozařované plochy vzorků nebo pouze z vybraných oblastí, jak to umožňuje technika zobrazovací fluorimetrie?

Otázka k obr. 15 a 16, str. 21 a 22: Škoda, že uvedená "korelační analýza" není úplná, neboť chybí jak vlastní regresní analýza (např. proložení/nafitování experimentálních dat polynomem 4.-5. řádu), tak porovnání odpovídajících hodnot koeficientů regrese, což vede k dosti spekulativním vývodům. Proč nebyla provedena regresní analýza naměřených dat?

4. a 5. část (Diskuse a Závěr)

Text 1. odstavce v diskusi (str. 23) je nesrozumitelný, vzhledem k chybějícímu textu ve 2. navazující větě. Rozpor v úrovni disipace excitační energie a zjištěných hodnotách NPQ v zimním období (str. 23) souvisí se stanovením správné hodnoty referenční hladiny F_M pro tento parametr. S většinou dále uváděných závěrů souhlasím, stanovený cíl a úkoly považuji za splněné. Nabízí se však otázka, proč nebyla fluorescenční měření podložena analýzou obsahu pigmentů, obzvláště když měření byla prováděna na částech asimilačního aparátu oddělených od mateřských rostlin? A proč nebylo pokračováno v měřeních, resp. proč nejsou uváděna experimentální data, i pro období po 26.4. 2006, tj. do jara 2007?

6. část (Literatura)

Tato část práce je plná chyb a nepřesností. Není dodržena jednotná forma citací (míchání české a anglické notace), chybí citace v textu na str. 9 zmiňované práce Šebánek a kol., ve

dvou různých referencích (Jones 1992 vs. Savitch a kol. 2002) jsou zcela identické části (*Plant Cell Environ.* 25:761-771), u knižních publikací nejsou uváděny editoři nebo názvy odkazovaných kapitol apod.

I přes uvedené připomínky a výhrady, výsledky předložené práce svědčí o tom, že Silvie Svidenská prokázala potřebnou odbornou erudici a experimentálně zvládla studovanou problematiku. Za presentovanými výsledky se skrývá velký objem pečlivé a systematicky prováděné práce. Věřím, že v textu uváděná a diskutovaná zjištění poslouží jako stimulující faktor pro její další experimentální práci a hlubší studium odborné literatury.

Proto **doporučuji** oponovanou bakalářskou práci přijmout k obhajobě a navrhuji ji klasifikovat známkou **velmi dobře**.

Karel Roháček

V Českých Budějovicích, dne 5.6. 2007

RNDr. Karel Roháček, CSc.

Oponentní posudek na BP Silvie Svidenské

„Roční průběh základních fluorescenčních parametrů dvou stálezelených rostlin“

Předložená bakalářská práce (BP) se zabývá stanovením a změnami vybraných parametrů indukční křivky fluorescence v průběhu roku u dvou stálezelených druhů rostlin *Picea omorika* (nikoli *omorica*) a *Rhododendron x hybridum* pomocí kinetického zobrazovacího fluorometru. Dále se BP zabývá stanovením rychlosti asimilace CO₂ pomocí gazometrického systému CIRAS-1.

Členění BP odpovídá požadovaným standardům. Teoretická i experimentální část práce odpovídá svým rozsahem (celkem 27 stran, 19 obrázků a grafů) kladeným nárokům. Z formálního hlediska doporučuji u obrázků, které jsou složeny z více grafů, tyto postupně označovat písmeny A,B... BP je napsána bez gramatických chyb, ačkoli některé věty jsou kostrbaté (např. str. 20: „I u Fv/Fm u rododendronu i u smrku ...“).

V teoretické části BP autorka člení proces fotosyntézy na fázi světelnou a fázi temnotní (str. 5). Toto členění není zcela šťastné, neboť např. změna pH stromatu během „světelné fáze“ vede k aktivaci řady enzymů zapojených v Calvinově cyklu. termín primární fotochemické reakce (str. 8), případně sekundární biochemické reakce, mi přijde jako vhodnější. V posledním odstavci kapitoly 1.1.1 (str. 5) autorka zapomněla uvést ještě jeden, zřejmě základní proces, ke kterému dochází po absorpci světla. Prosím o doplnění. Dále prosím o vysvětlení jak je definována fotosyntetická účinnost (str. 7, 4. řádek zdola).

Ke kapitole Materiál a metody mám následující připomínky a dotazy. Z textu není zcela jasné, v kolik hodin byly vzorky odebírány, resp. v kolik hodin byla měření provedena. Je vhodné, zejména u popisů grafů, důsledně uvádět, že se jedná o

teplotu vzduchu. Předpokládám, že teplota vzduchu byla naměřena ve standardní meteorologické budce, tj. 2m nad povrchem země. V jaké výšce se nacházely studované listy a letorosty? Mohly být tyto ovlivněny např. pozdními přízemními mrazíky? Bylo by rovněž vhodné uvést distribuci srážek, zda-li nedošlo v průběhu sledovaného období ke stresu suchem. Citace čidla Li-250 není standardní (str. 11), rovněž není zřejmé v jakém rozsahu vlnových délek toto čidlo měří (FAR, global). Prosím o vysvětlení, zda-li byla provedena 3 měření na jednom listu, či byly měřeny 3 listy. Z textu toto není zcela jasné (2.odst v kap. 2.2, str. 11). K vlastnímu provedení experimentů mám dvě připomínky. (1) temnotní adaptaci doporučuji provádět venku, při aktuální teplotě vzduchu (listu) a list přenést do laboratoře pouze na vlastní měření. (2) Bylo ověřeno, že světlo o intenzitě $1500 \text{ umol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ je skutečně saturační? Rovněž doba působení aktinického světla (90s) se mi zdá příliš krátká pro dosažení ustálené hodnoty F_s a aktuálního kvantového výtěžku PSII.

U grafů (např. 9, 12-15) v kapitole Výsledky je nutno v popiscích uvést, co znamená zobrazený bod a co znamená chybová úsečka (prosím o dodatečné vysvětlení). U grafů 10-12 (str. 16), jedná se na ose x (fluorescence) skutečně o relativní jednotky (r.j.)? Termíny „osvětlené“ a „zastíněné“ letorosty považuji za nevhodné, doporučuji používat „slunný“, „stinný“ typ letorostu. Byly mezi těmito typy letorostů pozorovány statisticky průkazné rozdíly (viz. grafy 13, 14)? Uveďte, prosím, proč byla pro korelaci fluorescenčních parametrů zvolena právě průměrná minimální teplota za předcházející 3 dny (grafy 15-16). Uvádíte-li v textu, že jste pozorovala lineární závislost mezi parametry, je toto nutno doplnit o rovnici této lineární závislosti a hodnotu korelačního koeficientu. Prosím Vás dále o vysvětlení, jak mezi sebou souvisí hodnota parametru NPQ naměřená při aktinickém světle $100 \text{ umol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ s aktuální hodnotou FAR při odběru vzorku (graf 19).

Oponentní posudek na BP Silvie Svidenské

Přes výše uvedené kritické připomínky, jejichž cílem není snižovat hodnotu předložené BP, ale vyvolat diskusi a pomoci autorce v její další práci, doporučuji BP Silvie Svidenské k obhajobě a navrhuji ji hodnotit známkou „velmi dobře“.

V Brně dne 4-6-2007



Mgr. Otmar Urban, Ph.D.

ÚSBE AV ČR