

*Oponentský posudek na bakalářskou diplomovou práci Václava Šloufa*

## Annual changes in steady state chlorophyll fluorescence yield ( $F_s$ ) of two evergreen plants

Oponent: *RNDr. Karel Roháček, CSc.*

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

Bakalářská práce Václava Šloufa je zaměřena do oblasti biofyziky fotosyntézy a rostlinné fyziologie. S využitím metod zobrazovací fluorimetrie, reflektometrie a gazometrie zkoumal změny fotosyntetické účinnosti asimilačního aparátu u dvou zástupců stálezelených vyšších rostlin – smrku Pančičova (*Picea omorica*) a rododendronu (*Rhododendron x hybridum*). Kontinuální měření, prováděná po dobu 15 měsíců, zahrnovala jak období vegetační aktivity a vegetačního klidu (dormance) uvedených dřevin, tak jarní a podzimní přechodové fáze. Hlavním cílem práce bylo prokázat, resp. ověřit vypovídací schopnosti fluorescenčního výtěžku chlorofylu  $F_s$ , který odpovídá emisi fluorescence v tzv. fotosynteticky ustáleném stavu, s ohledem na jeho potenciální využití pro celoroční dálkové sledování fotosyntetické aktivity zemské vegetace. V návaznosti na tento hlavní cíl bylo jeho úkolem monitorování ročních změn rychlosti asimilace  $CO_2$  (A) a efektivního kvantového výtěžku fotochemické konverze excitační energie ve fotosystému II ( $\Phi_{II}$ ). Dalším úkolem bylo ověření prototypu firemního přístroje a jeho využití pro měření 2 indexů optické odrazivosti (NDVI a PRI) povrchu listů rododendronu.

Cíl i úkoly práce jsou jasně formulovány, jsou plně v souladu se zadaným tématem práce, jež je velmi aktuální. Text je srozumitelně napsán velmi dobrou angličtinou (obzvláště úvodní část), přehledně členěn do 7 částí a svědčí o velkém zaujetí autora práce studovanou problematikou. Svou bakalářskou práci vypracoval v rozsahu 37 stran, obsahuje seznam v textu se vyskytujících zkratk, 24 obrázků a 31 literárních odkazů. K jednotlivým částem práce mám následující připomínky, doplňky a dotazy:

### 1. a 2 část (MOTIVATION a INTRODUCTION)

Tyto 2 části jsou velmi pěkně napsané. Úvod je poměrně rozsáhlý (15 stran), ale podává podrobný přehled studované problematiky. Uvedené větné formulace jsou jasné a výstižné. V souladu s citovaným odkazem na originální publikaci autorů (str. 8) doporučuji používat termín "Calvin-Benson cycle". V textu pojednávajícím o elektronově transportním schématu (obr. 3 na str. 9) je opominut ferredoxin (Fd), jako mobilní přenašeč elektronů. Rubisco (str. 11) je odborný slang hojně používaný v americké odborné literatuře - správnější označení je RubPCO. Parametr ETR (str. 14) neobsahuje "intenzitu světla", nýbrž hustotu toku záření (PFD). Namísto termínu "non-imaging fluorimeters" (str. 14) doporučuji používat termín "integrative fluorimeters", neboť i tyto přístroje zobrazují fluorescenci daného místa na listu, avšak integrálně z celé světlovodíčem ozařované plochy. Formulace "blue and red light" (str. 15) je slang. Jedná se o záření s vlnovými délkami z modré a červené oblasti viditelného spektra. Odkaz Lichtenthaler et al. 1998 (str. 16) není uvedena v seznamu použité literatury. Violaxantin je v průběhu tzv. xantofylového cyklu de-epoxidován na zeaxantin, nikoli epoxidován (str. 17).

*Otázka k textu na str. 14:* Můžete vysvětlit tvrzení, že "lineární elektronový transport a fixace  $CO_2$  v laboratorních podmínkách dobře korelují", ale v polních podmínkách tato korelace "může být narušena"?

*Otázka k textu na str. 19:* Zmiňujete "konvoluci fotochemických a nefotochemických zhášecích procesů", ale tyto nejsou nikde dále v textu specifikovány. Můžete objasnit, co se za těmito fluorescenci zhášejícími procesy konkrétně skrývá?

### 3. část (MATERIALS AND METHODS)

V této části jsou stručně popsány experimentální lokalita, sledované období, studované rostliny a měření indukované fluorescence chlorofylu, rychlosti asimilace CO<sub>2</sub> a parametrů povrchové odrazivosti. Postrádám alespoň blokové schéma uspořádání experimentu, i když fotografický snímek z místa záznamu by byl nejlepší. Očekávám, že při obhajobě své práce autor podrobněji objasní, jakou vlnovou délku měly pulsy měřicího záření, v jaké denní době byla měření prováděna, zda geometrické uspořádání měřených 4 větví (smrk), resp. 6 listů (rododendron) bylo vždy identické, zda byla brána do úvahy okamžitá ozáření vzorků sluncem během měření a teplota povrchu jehlic/listů, jaký byl počet opakování jednotlivých měření pro výpočet středních hodnot a středních kvadratických odchylek (dále uváděných v grafech), jak bylo v zimním období bráněno depozici sněhu na jehlice a listy, apod.

### 4. část (RESULTS)

Tato část obsahuje velmi zajímavá zjištění a původní experimentální data. Výsledky jsou uvedeny přehledně v grafech a stručně okomentovány v doprovodném textu. K uvedeným zjištěním mám následující dotazy:

1. Jak lze vysvětlit, že pro záporné hodnoty rychlosti asimilace CO<sub>2</sub> naměřené v období teplot pod bodem mrazu (obr. 20 a 19 na str. 26 a 25) byly u obou dřevin současně zjištěny kladné, a v případě smrku (viz 11.-12. měsíc) dokonce maximální, hodnoty parametru  $\Phi_{II}$  (obr. 21 na str. 27)?

2. Proč nebyla provedena regresní analýza dat znázorněných v grafech na obr. 23 na str. 29? Závislost parametru  $F_S$  na průměrné minimální denní teplotě vypočtené z 3 vlastního měření předcházejících dnů se zdá být ve všech třech případech lineární.

3. Deepoxidace violaxantinu na zeaxantin je enzymaticky řízený proces. Může probíhat tato konverze při teplotách blízkých, či dokonce pod bodem mrazu? Jak jinak lze vysvětlit zjištění uvedená v obr. 24B na str. 30?

### 5. a 6. část (DISCUSSION a CONCLUSION)

Oceňuji poměrně obsáhlou diskusi zjištěných výsledků, i když s některými závěry se ne zcela ztotožňuji. Cenné je zjištění o prokazatelně vyšší variabilitě parametru  $F_S$  v obdobích výstupu, resp. vstupu sledovaných dřevin do, resp. z dormance (obr. 22, str. 28). Vysvětlení tohoto efektu může souviset s nejednotným přechodem asimilačního aparátu stálezelených rostlin i v rámci jedince do/z dormance. Faktor, který by měl být vzat do úvahy je ten, že v zimním (dormantním) období jsou silně potlačeny, resp. zcela zastaveny enzymatické procesy v chloroplastech a vzhledem k nízkému obsahu vody je inhibována i činnost kyslík vyvíjejícího komplexu. Značně spekulativní dedukce ohledně obsahu chlorofylu (a potažmo zeaxantinu) ve sledovaných dřevinách v různých obdobích roku by bylo nejlépe v budoucnu doplnit vlastní analýzou obsahu pigmentů v měřených vzorcích.

### 7. část (REFERENCES)

Literární přehled je pečlivě zpracován a počet uvedených citací svědčí o autorově zájmu o zadanou problematiku. Našel jsem pouze 1 referenci, která není uvedena v seznamu literatury, ale je citována v textu, a to "Lichtenthaler et al. 1998" (str. 16).

Závěrem rád konstatuji, že za předloženou práci a v ní prezentovanými výsledky se skrývá velký objem autorem pečlivě a systematicky prováděné experimentální práce. I přes výše uvedené připomínky a výhrady, výsledky práce svědčí o tom, že Václav Šlouf prokázal potřebnou odbornou erudici a experimentálně zvládl studovanou problematiku. Doufám, že v textu uváděná a diskutovaná zjištění poslouží jako stimul pro jeho další experimentální i teoretickou práci.

Proto **doporučuji** oponovanou bakalářskou práci k obhajobě a navrhuji ji klasifikovat známkou **výborně**.

*Karel Roháček*

V Českých Budějovicích, dne 5.6.2007

RNDr. Karel Roháček, CSc.

## Oponentní posudek na BP Václava Šloufa

„Annual Changes in Steady State Chlorophyll Fluorescence Yield (Fs) of Two Evergreen Plants“

Předložená bakalářská práce (BP) se zabývá stanovením a změnou rychlosti asimilace CO<sub>2</sub> a fluorescence v ustáleném stavu v průběhu roku u dvou stálezelených druhů rostlin *Picea omorika* a *Rhododendron x hybridum* pomocí kinetického zobrazovacího fluorometru a otevřeného gazometrického systému. Autor rovněž přináší informaci o změnách spektrálně-optických vlastností listů (indexy PRI, NDVI), měřených na základně reflektance.

Členění BP odpovídá požadovaným standardům. Teoretická i experimentální část práce odpovídá svým rozsahem (celkem 37 stran, 24 obrázků a grafů) kladeným nárokům. Z formálního hlediska doporučuji u obrázků, které jsou složeny z více grafů, tyto postupně označovat písmeny A,B... Oceňuji zařazení kapitoly 1. Motivation (str. 6), která dokládá, že autor si uvědomuje, co je cílem jeho experimentů a jaký tyto experimenty mohou mít přínos. BP je sepsána v anglickém jazyce, dle mého názoru velmi kvalitně, bez gramatických chyb s minimem formálních nedostatků. Např. na str. 25, graf 19 nejednotné označení PAR (graf), PPF<sub>D</sub> (popis grafu) a PFD (text v úvodu).

V teoretické části BP autor člení proces fotosyntézy na fázi světelnou (str. 8) a fázi temnotní (str. 10). Toto členění není zcela šťastné, neboť např. změna pH stromatu během „světelné fáze“ vede k aktivaci řady enzymů zapojených v Calvinově cyklu. Kromě drobných nepřesností (gradient protonů – str. 8, RuDP – str. 11), nemám k této kapitole připomínky.

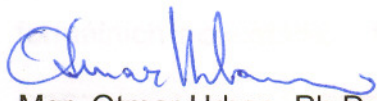
Ke kapitole Materiál a metody mám následující připomínky a dotazy. Z textu není zcela jasné, v kolik hodin byly vzorky odebírány, resp. v kolik hodin byla měření provedena. Je vhodné, zejména u popisů grafů, důsledně uvádět, že se jedná o teplotu vzduchu. Uveďte, prosím, v jaké výšce se nacházely studované listy a letorosty, respektive odpovídá teplota vzduchu naměřená v meteorologické budce té, která byla zjištěna v okolí listů? Vlastní fyziologické procesy pak lépe korelují s teplotou dané rostlinné tkáně. Byla stanovena i teplota listu, resp. byla tato odlišná od teploty vzduchu? Bylo by rovněž vhodné uvést distribuci srážek, zda-li nedošlo v průběhu sledovaného období ke stresu suchem. Z textu není jasné, jaký typ radiace (FAR, global) měří uvedené čidlo Li-250 (Li-cor, USA), v jakém místě byla radiace měřena (na úrovni studovaných listů?) a v jakém geometrickém uspořádání (čidlo umístěno vodorovně nebo kolmo na osu listu?). Prosím o vysvětlení. Rovněž by bylo vhodné podat více informací o studovaných jedincích, např. výška, zda-li rostly v zástínu či na otevřené ploše, z jakého patra a ze které světové strany byly měřeny listy, jaké bylo stáří těchto listů na počátku experimentu? K vlastnímu provedení experimentů mám dotaz, zda-li bylo ověřeno, že intenzita saturačního pulsu  $1500 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  byla dostatečná? Z vlastní zkušenosti dále vím, že průduchy listů rododendronů jsou velmi citlivé na rychlost proudění okolního vzduchu. Jak dlouho byly listy uzavřené v asimilační komůrce během gas-exchange měření a jaká byla zvolena rychlost průtoku vzduchu gazometrickým systémem (str. 23).

U grafů (např. 20,21) v kapitole Výsledky je nutno v popiscích uvést, co znamená zobrazený bod a co znamená chybová úsečka (prosím o dodatečné vysvětlení). U grafu 22 (str. 28) prosím o vysvětlení, co znamenají malé prázdné body („variability of  $F_s$  signal“ není přesné). Mohla být tato zvýšená variabilita  $F_s$  způsobena vyšší variabilitou dopadající intenzity FAR během měření? Respektive, jaká je závislost  $F_s$

na FAR a mění se tato závislost v průběhu roku? Uvedte, prosím, proč byla pro korelaci Fs zvolena právě průměrná minimální teplota za předcházející 3 dny (graf 23). Uvádíte-li v textu, že jste pozoroval vzájemnou korelaci Fs a teploty (str. 28), je toto nutno doplnit o rovnici popisující tuto závislost a hodnotu korelačního koeficientu. V diskusi (str. 32-34) autor dokazuje, že se mu podařilo proniknout do studované problematiky, což mu následně umožnilo sepsat kvalitní komentář a diskusi naměřených dat. Závěrem bych rád autorovi doporučil, aby se získané údaje o změnách Fs pokusil korelovat s hodnotami vodivosti průduchů, které má jistě na základě gazometrických měření k dispozici (viz. např. Flexas J et al. (2002) *Physiologia Plantarum* 114 (2): 231-240).

Přes výše uvedené kritické připomínky, jejichž cílem není snižovat hodnotu předložené BP, ale vyvolat diskusi a pomoci autorovi v jeho další práci, doporučuji BP Václava Šloufa k obhajobě a navrhuji ji hodnotit známkou „výborně“.

V Brně dne 4-6-2007



Mgr. Otmar Urban, Ph.D.

ÚSBE AV ČR