

Posudek práce

předložené na Přírodovědecké fakultě JU

☐ posudek vedoucího
☐ bakalářské práce

☒ posudek oponenta
☒ diplomové práce

Autor: **Bc. Filip Charvát**

Název práce: **Efektivní velikost světlosběrných antén a její význam pro regulaci fotosyntézy**

Studijní program a obor: Biofyzika

Rok odevzdání: 2018

Jméno a tituly oponenta: RNDr. Milan Durčan, CSc.

Pracoviště: Ústav fyziky a biofyziky

Kontaktní e-mail: durcan@umbr.cas.cz

Odborná úroveň práce:

☐ vynikající ☐ velmi dobrá ☒ průměrná ☐ podprůměrná ☐ nevyhovující

Věcné chyby:

☐ téměř žádné ☐ vzhledem k rozsahu přiměřený počet ☒ méně podstatné četné ☐ závažné

Výsledky:

☐ originální ☒ původní i převzaté ☐ netriviální kompilace ☒ citované z literatury ☐ opsané

Rozsah práce:

☐ veliký ☐ standardní ☒ dostatečný ☐ nedostatečný

Grafická, jazyková a formální úroveň:

☐ vynikající ☐ velmi dobrá ☒ průměrná ☐ podprůměrná ☐ nevyhovující

Tiskové chyby:

☐ téměř žádné ☒ vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet ☐ četné

Celková úroveň práce:

☐ vynikající ☐ velmi dobrá ☐ průměrná ☒ podprůměrná ☐ nevyhovující

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky oponenta:

Předložená práce, po formální stránce, necituje **Cíle práce** (cit. dle Zadávacího protokolu).

V první kapitole na str. 1 sice jsou některé cíle zmíněny, ale z pohledu čtenáře, který netuší nic o písmenku $\square$ a který nebyl seznámen s průběhem kinetiky fluorescence *in vivo* u temnotně adaptovaného vzorku po zapnutí aktinického světla, je velmi těžké vydedukovat, že jde o cíle práce. S každým konkrétním cílem v zadávacích protokolech prací pak souvisí vědecká **hypotéza**, kterou v rámci daného projektu chceme potvrdit či vyvrátit a tomu musí pak odpovídat experimentální přístup a jeho design, experimentální metody, abychom mohli odpovědět Ano X Ne. V předkládané práci není předložena žádná hypotéza, text nesměruje k podstatě problému, popis experimentálních metod je nevyhovující. Takže v konkrétní podobě: kap. 1 mohla být umístěna až na str. 13 nebo ještě lépe na str. 22, aby čtenář pochopil, co z kapitoly 6 je podstatné a proč jsme to měřili. Dále, pakliže v názvu práce jsou „světlosběrné antény“, pak minimálně tolik, nakolik se autor rozepisuje v kap. 2.2 o reakčních centrech, mělo být pojednáno o světlosběrných komplexech a o parametrech $\square$ a p , které pak pro modelování kinetik dějů ve světlosběrných aparátech používáme. Zde máme prezentovanu fotosyntézu (kap. 2), s rovnicí (1), která k příběhu nepatří, Kautsky efekt už popsán není a dostáváme-li se ke kapitole 3.4 na str. 8, tak zjistíme, že sice autor popsal záblesk o délce 60-100 $\square$ s, ale už nepopsal metodu, ve které se tímto zábleskem zavírají reakční centra. V závěru odstavce 3.4 a 3.5 je vždy věta „Pomocí této metody je možné získat, určit...“, ale metodu zde nenalezneme a není popsána ani v kapitole 7.2 a 7.3. Metoda fitování fluorescence dle rovnic (4) a (5) by měla být popsána tak, aby i člověk, který nečetl publikaci Kolber, Prášil & Falkowski 1998, pochopil podstatu problému. V kapitole 7 často postrádám relevantní citace, např. kap. 7.5 určitě nevznikla na stole autora, je třeba citovat a je určitě dobré demonstrovat, že touto metodou je možné nějaký zeaxantin vůbec detekovat, případně jaký je u této metody limitní práh pro detekci zeaxantinu, jaké nejmenší množství zeaxantinu byste ještě detekovali. Co se týče kapitoly 8, je možné napsat, že práce zahrnuje dostatečný objem výsledků pro diplomovou práci. Metody zpracování výsledků jsou však popsány velmi povrchně.

Podle mne práce nese všechny stopy prvního rukopisu, který bylo třeba mnohokrát ještě přepsat, aby splnil to, k čemu je ne magisterská, ale již bakalářská práce (mimo jiné také) určena, tj. aby se student naučil vyjadřovat, aby byl schopen jasně formulovat odborné téma.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

- Na str. 9 zavádíte nové označení F_o^{MT} , které není ve vysvětlivkách (seznam zkratk VII). Proč? Čím se liší F_o^{MT} od F_o^{ST} ? Jaký je rozdíl mezi F_M^{MT} a F_M^{ST} ? Na fyzikální úrovni je rozdíl jasný (měří se jinou délkou světelného záblesku), mně by ale zajímal rozdíl spíše na biochemické či fyziologické úrovni stavu fotosyntetického aparátu po takovémto záblesku.

- Jaká byla intenzita měřicího světla např. u obr. 20 či 21 pro jednotlivé vzorky? Jak byla testována vhodnost této intenzity např. pro stresovaný list? Je možné, že vyšší hodnota F_o je aktinický efekt?

- Co soudíte o listech špenátu ze supermarketu, který po uříznutí má zavřené průduchy, pak volně usychá nedefinovanou dobu? Nebylo by lépe na trávníku před laboratoří čerstvě uříznout list jetele? Obzvláště na fluoresc. experimenty na intaktních listech? Situace je poněkud jiná u izolace intaktních chloroplastů nebo thylakoidů z takovýchto listů, jak se ve světě běžně izoluje.

- K poslednímu odstavci na str. 51 bych se zeptal, proč nebylo možné v kterékoli fázi kinetiky fluorescence, v kterékoli fázi izolace chloroplastů, před píkem, po píku, část vzorku zalít kapalným dusíkem a provést analýzu pigmentů? Resp. proč toto není diskutováno, jaké jsou zde problémy s interpretací zpětné epoxidace.

Práci

☒ doporučuji

☐ nedoporučuji

uznat jako diplomovou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

☐ výborně ☐ velmi dobře ☒ dobře ☐ neprospěl

Místo, datum a podpis oponenta:

ČB, 21.5.2018, 

Posudek práce

předložené na Přírodovědecké fakultě JU

☐ posudek vedoucího
☐ bakalářské práce

☒ posudek oponenta
☒ diplomové práce

Autor: **Filip Charvát**

Název práce: **Efektivní velikost světlosběrných antén a její význam pro regulaci fotosyntézy**

Studijní program a obor: Biofyzika

Rok odevzdání: 2018

Jméno a tituly oponenta: Mgr. Václav Šlouf, Ph.D.

Pracoviště: Ústav fyziky a biofyziky, PřF JU

Kontaktní e-mail: sloufv00@prf.jcu.cz

Odborná úroveň práce:

☐ vynikající ☒ velmi dobrá ☐ průměrná ☐ podprůměrná ☐ nevyhovující

Věcné chyby:

☐ téměř žádné ☐ vzhledem k rozsahu přiměřený počet ☒ méně podstatné četné ☐ závažné

Výsledky:

☒ originální ☐ původní i převzaté ☐ netriviální kompilace ☐ citované z literatury ☐ opsané

Rozsah práce:

☐ veliký ☒ standardní ☐ dostatečný ☐ nedostatečný

Grafická, jazyková a formální úroveň:

☐ vynikající ☐ velmi dobrá ☐ průměrná ☐ podprůměrná ☒ nevyhovující

Tiskové chyby:

☒ téměř žádné ☐ vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet ☐ četné

Celková úroveň práce:

☐ vynikající ☐ velmi dobrá ☐ průměrná ☒ podprůměrná ☐ nevyhovující

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky oponenta:

Předložená bakalářská práce se zaměřuje na regulační mechanismy fotosyntézy u různých fotosyntetických organismů, které byly studovány prostřednictvím záznamu fluorescence chlorofylu.

Práce prokazuje značné autorovo nasazení při získávání experimentálních výsledků. Prezentace těchto výsledků ovšem značně pokulhává. V práci se vyskytuje několik zásadních problémů: a) jakási neuspořádanost textu nutící čtenáře neustále hledat linku spojující jednotlivé partie a přemýšlet o motivacích jednotlivých kroků; b) nedostatečně promyšlená koncepce vedoucí k tomu, že v textu chybí např. kapitola o anténách, vysvětlení řady používaných pojmů či zasazení práce do širšího kontextu (také viz komentář 1.); c) velmi špatná jazyková a formální úroveň textu (v textu jsem našel velké desítky takových nedostatků). Dále je myslím na škodu, že např. fitování experimentálních dat není věnováno více prostoru. Jsem přesvědčen, že autor při tomto i jiných počítačových zpracováních dat vykonal nemálo dobré práce, která ovšem z důvodu nedostatečného popisu v textu nemůže přispět k lepšímu hodnocení práce.

Komentáře a připomínky:

1. str. 1: Cíle jsou zde pojaty nevhodně jako zhodnocení provedené práce (lze chápat jako závěr práce). Také chybí celkové zasazení práce do širšího kontextu (mám na mysli kontext jakési střední úrovně, tedy ani velmi obecný jako rozšiřování znalostí o fotosyntéze, ani velmi konkrétní jako zjišťování korelací fluorescenčních parametrů).
2. str. 3: Formulace „... molekuly vodíku nebo jiné organické sloučeniny...“ je nevhodná, protože evokuje, že vodík je organická látka.
3. str. 5 a 6: PQ je plastochinon (oxidovaná forma), PQH₂ je plastchinol (redukovaná forma).
4. str. 6: Ztotožňování reakčního centra a zvláštního páru není správné (RC má kromě pigmentů i proteinovou část).
5. str. 10: Věta „Úroveň NPQ můžeme...“ nedává smysl.
6. str. 14 i jinde: Nerespektování nomenklatury druhů – druhové jméno s malým písmenem. Název třídy Eustigmatophyceae napsán ve třech exemplářích a pokaždé jinak.
7. str. 22: Chybí vysvětlení motivace pro použití PFA. Takto se čtenář k motivaci dostává velmi postupně při čtení následujících stránek.
8. str. 24 i jinde: „...na modrém aktinickém světle s a bez aplikace PFA...“ není gramaticky správně; správně např. „...s aplikací PFA a bez ní...“
9. str. 36: Není uvedeno, jaký je detailnější vztah NPQ a efektivity fotosystému II (je pouze sděleno, že NPQ sleduje efektivitu fotosystému II).
10. str. 37: Není definován kvantový výtěžek fotosystému II.
11. str. 39: Věta „Do obou vzorků jsem přidal Methyl viologen...“ nedává smysl.
12. str. 40: Je-li podezření na neznámý faktor („neznámý stres“), bylo by rozhodně lepší pěstovat špenát v kontrolovaných podmínkách.
13. str. 41: V textu chybí odkaz na obr. 24.
14. str. 44: Tvzení o shodnosti ostatních chromatogramů považuji za příliš silné. Raději bych použil výraz „velmi podobné“ apod.
15. str. 47: Chybí vysvětlení, proč se mění F_M a σ při stavových změnách právě popsáním způsobem.
16. str. 48: Odkaz na obr. 19 na začátku 3. odstavce nejspíše nepatřičný (na obr. 19 není znázorněna σ).
17. str. 51: V druhém odstavci není na začátku řečeno, jaký vzorek má autor na mysli.
18. Vzhledem k zaměření práce chybí kapitola o světlosběrných komplexech s důrazem na fykobilizomy.
19. Velmi podceněné je vysvětlování pojmů, často s prací úzce spjatých: exciton (str. 7), efektivní velikost antén (na str. 9 chybně označeno jako efektivní velikost reakčních center), konektivita

- reakčních center (str. 9), fotoinhibice (str. 9), fotoprotektivní mechanismus (str. 9), antény (str. 9), fykobilizomy (str. 9), zhasnutý stav (str. 12), chlorofylové antény (str. 27), S-stavy (str. 30).
20. V textu se na více místech vyskytuje chyba týkající se nesprávného užití dějového (měřicí) namísto správného účelového přídavného jména (měřicí; str. 16 i jinde).

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

1. Jak autor chápe pojem *řasa*? K otázce mě vede výčet organismů s fotosystémem II na str. 5.
2. Proč má foton vyzářený při fluorescenci nižší energii než foton, který molekulu excitoval (str. 7)?
3. Jak mohla být prováděna korelace mezi nefotochemickým zhášením a velikostí antén u izolovaných center PSII (str. 13)?
4. Jak mám chápat normalizaci „mezi minimální a maximální hodnotou“ (str. 23)?
5. Prosím o vysvětlení postupu získání hodnot p a σ v tabulce na obr. 9.
6. Má autor nějaké vysvětlení, proč při aplikaci oranžového světla nedošlo v kinetice fluorescence k tak výrazným změnám jako v případě modrého světla (str. 23)?
7. Prosím o vysvětlení (v textu chybí), proč nárůst/pokles hodnoty F_M značí ten či onen stavový přechod (str. 26).
8. Nepřijde mně, že nárůst signálu u $\Delta ApcF$ ve fázi 2 a 4 je minimální. Proto zpochybňuji, že nárůst/pokles hodnoty F_M je dostatečným důkazem pro určení, v jakém stavu je daný vzorek (str. 26). Prosím autora o komentář.
9. Pokles ve fázi 3 je přisouzen stavovým přechodům u WT-KIR, ovšem analogický pokles se vyskytuje taktéž u $\Delta ApcD$, u nějž ke stavovým přechodům docházet nemůže (str. 27). Prosím autora o komentář.
10. Jaké byly technické důvody nepoužití PFA (obr. 17)?
11. V nadpisu kapitoly 8.4 je zmíněna korelace NPQ a σ , ovšem v této kapitole žádná přímá korelace, odpovídající např. obr. 26, nebyla zjišťována. Prosím autora o komentář.
12. Co znamená normalizace na F_0 a F_M (obr. 24)?
13. Jak souvisí posun křivky na časové ose s velikostí antén (str. 41)?
14. Nikde v práci není ukázána nafitovaná kinetika, jež se zmiňuje např. na str. 42. Prosím o předvedení fitu ve srovnání se získanými daty tak, aby bylo možno zhodnotit kvalitu fitu.
15. Na začátku diskuse se autor odkazuje na průběh σ na obr. 12 a 13. Na oněch obrázcích ovšem hodnoty σ nejsou znázorněny. Prosím o komentář včetně vysvětlení toho, na která data byl aplikován matematický model.

Práci

- ☒ doporučuji
☐ nedoporučuji
uznat jako diplomovou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

- ☐ výborně ☐ velmi dobře ☒ dobře ☐ neprospěl/a

Místo, datum a podpis oponenta:

O. BUDĚJOVICE, 11.5.2018, 