

Obhajoba proběhla prezenčně. Přítomni byli tito členové komise:

Jindřich Chmelař, Magda Zrzavá, Jaroslava Lieskovská, Helena Langhansová, Martina Žurovcová. Dále byla přítomna Hana Sehadová, konzultantka práce. Komise se sešla v plném počtu.

1. Uchazečka představila výsledky své práce
2. Školitelka Martina Žurovcová přečetla hodnocení vedoucí práce.
3. Oponentka Magda Zrzavá přečetla oponentský posudek a vnesla dotazy:

Dotaz 1) Autorka zjistila, že mitochondriální marker COI vykazoval vnitrodruhovou variabilitu jen u tří zkoumaných druhů, zároveň však uvádí, že to mohlo být způsobeno nerovnoměrným množstvím sekvencí získaných z jednotlivých druhů. Neuvažovali jste o získání vlastních vzorků masařek jejich lovem nebo spoluprací s dalšími entomology?

Uchazečka a školitelka zodpověděla dotaz

Dotaz 2) V metodách i ve výsledcích autorka zmiňuje, že se nepodařilo osekvenovat PCR produkty markeru ITS. Zároveň jsem v metodách nikde nenašla zmínku, že by měřila množství DNA, které do sekvenační reakce dávala. Možná by kvantifikace DNA mohla pomoci. Také mě napadá, když už byly tyto PCR produkty zaklonované, jestli by nebylo bývalo lepší k jejich amplifikaci použít univerzální primery M13. Odpadla by tak ztráta počátku sekvence, která je vždy špatná, ale v případě amplifikace pomocí M13 by počáteční sekvence patřila vektoru, který je stejně potřeba odstranit.

Uchazečka zodpověděla dotaz. Oponentka vzhesla doplňující dotaz, který uchazečka zodpověděla.

Dotaz 3) Podobně v metodách v kapitole 3.2.2 PCR je uvedeno množství templátu v mikrolitrech, ale není tam uvedeno množství DNA (v ng), které do reakce přišlo. Předpokládám, že je to proto, že jste množství DNA po izolaci nekvantifikovali. Myslím, že při testování nových markerů by bylo vhodné měření koncentrace provést nebo při optimalizaci PCR použít vnitřní kontrolu, která ukáže, že je v reakci dostatek templátu. U reakcí, kde se nepodařilo získat očekávaný produkt, bych zkusila zvýšit koncentraci primerů.

Uchazečka souhlasí s komentářem a popsala, jak probíhala metoda.

Dotaz 4) Ve výsledcích v obrázku 6 jsou uvedeny grafy, ve kterých je znázorněna korelace mezi genetickou a geografickou vzdáleností tří druhů, u kterých tato korelace vyšla signifikantně (narozdíl od ostatních testovaných druhů). V případě *Sarcophaga africa* není korelace příliš patrná a i hodnota p je na hranici signifikantnosti. Nemůže být tato korelace způsobena malým množstvím vzorků ze vzdálených lokalit?

Uchazečka odpověděla na dotaz.

Dotazy z komise: Jak se používají geny pro určení doby smrti v závislosti na ročním období? Jak podobné jsou COI mezi bakteriemi a masačkami? Jaká je třeba odbornost pro forenzní entomologii? Jak se porovnávají sekundární struktury RNA? Jak je věrohodná predikce? Co parametry?

Proběhlo hodnocení - Výborně, 150 bodů