

Oponentský posudek doktorské disertační práce

„Variabilita plemen kura domácího ve vybraných imunologických znacích slepice a vejce“

Autor: Mgr. Barbora Bílková

Školitel: RNDr. Michal Vinkler, Ph.D.

Práce se zabývá variabilitou vybraných imunitních znaků pěti plemen slepic (Araukana, Rousná zakrslá, Česká zlatá kropenatá, Minorka a Bantamka).

Prvním dílčím cílem práce cíle této práce bylo popsání hematologických parametrů, jejich variability na imunitní odezvy u vybraných druhů slepic, kde autoři s využitím otokového kožního testu potvrdili efekt buněčného složení krve na průběh prozánětlivé reakce a poukázali tak na význam variability hematologických znaků u ptáků.

Dalším cílem bylo popsání přirozené variability mezi plemeny slepic v jejich hematologických ukazatelích, kde pomocí metody průtokové cytometrie s fluorescenčně značenými protilátkami objevili imunologicky relevantní variabilitu ve složení periferní krve mezi vybranými plemeny.

Jako další cíl si autoři velmi správně zvolili vejce, tedy popsání mezidruhových rozdílů ve kvalitě vajec a proteomického složení vaječného bílku. Zaměřili se na rozdílnou proteinovou expresi – specifickou s vysokou antimikrobiální aktivitou u vybraných druhů slepic, kde použitá metoda tandemové hmotnostní spektrometrie jim umožnila popsat kompletní proteom bílku a odhalit v něm rozdíly v množství antimikrobiálních proteinů, které ukazují na odlišnosti v obranyschopnosti vajec proti externímu znečištění u různých plemen slepic. Vysoce pozitivně hodnotím tu část práce, která se zabývá místem vejcovodu slepice, kde se vytváří vaječný bílek, tedy intramagnální částí vejcovodu zvané Magnum. Magnum, jak správně autoři uvažovali, je místo, které může být z velké části ovlivněno mateřským organismem. S využitím sekvenace nové generace na platformě Illumina jako první popsali transkriptom slepičího magna a porovnali ho s proteomem vaječného bílku. V dosažených výsledcích nebyla potvrzena silná korelace mezi průměrnou expresí mRNA a průměrným množstvím daného proteinu v bílku a nešla pozorovat variabilita mezi plemeny nalezená v proteomu.

Téma předložené disertační práce je naprosto originální, aktuální, výzkumně ale i z praktického pohledu velmi zajímavé a týká se popsání variability vybraných imunitních znaků pěti plemen slepic pomocí v současné době dostupných moderních molekulárních a biotechnologických technik .

Vzhledem k tomu, že je tato práce velmi správně tvořena kompilací tří publikací, které řeší jednotlivé cíle dizertační práce, není potřeba se věnovat více podrobněji jednotlivým popisům klasických částí dizertační práce. Samotné literární přehledy v publikacích s dostatečnými citacemi dokazují velký zájem vědecké obce o tuto oblast. V přehledu jsou obrázky (fotografie), které, pokud jsou převzaty, jsou správně citovány.

Samotné cíle práce jsou, jak již bylo řečeno v úvodu, jasné a vycházejí ze správně formulované hypotézy.

K materiálu a metodice v prvním dílčím cíli této práce bylo popsání hematologických parametrů, jejich variability na imunitní odezvy u vybraných druhů slepic (Araukana, Rousná zakrslá, Česká zlatá kropenatá, Minorca a Bantamka) nemám podstatné připomínky. Vzhledem k tomu, že se jednalo o nekomerční hybridy slepic, řešitelé vejce jimi správně zvolených plemen slepic nejen sami vylíhli, ale i sami odchovali a prošli si tak nesnadnou cestou odchovem a chovem slepic všech zvolených linií v chovných podmínkách fakulty. A tento fakt vysoce cením, protože řešitelka in natura poznala velké rozdíly mezi zvolenými plemeny slepic a realita výsledků je tímto faktem umocněná. Na druhou stranu připomínám, že některé zvolené hybridy jsou však ve šlechtitelském programu i českých firem např. společnosti Dominant a o to víc by bylo zajímavé v příštích experimentech do skupiny zařadit komerčního hybrida. Veškeré použité testy - otokový kožní test, FACS- průtokové cytometrie s fluorescenčně značenými protilátkami, metoda tandemové hmotnostní spektrometrie, sekvenace nové generace na platformě Illumina byly správně zvolené a dosažená data byla zpracována správnými statistickými modely. Souhrnně lze konstatovat, že pro dosažení cílů byly zvoleny správné a aktuální metody a techniky hodnocení správně odebraných vzorků.

Výsledky

Autorka (celý tým) dosáhla ve své práci mimořádně zajímavých výsledků:

- V otokovém kožním testu byl potvrzen efekt buněčného složení krve na průběh prozánětlivé reakce, a autoři poukázali na význam variability hematologických znaků u testovaných plemen.

- Mezi vybranými plemeny byla prokázána imunologická variabilita ve složení periferní krve.
- Byl popsán kompletní proteom bílku a byly v něm nalezeny rozdíly v množství antimikrobiálních proteinů, které ukazují na odlišnosti v obranyschopnosti vajec u vybraných plemen.
- Byl nově popsán transkriptom slepičího magna, který byl porovnán s proteomem vaječného bílku.

Výsledky této práce ukazují na významnou variabilitu v imuno-fenotypu plemen kura domácího s potenciálním efektem na jejich parazitární resistenci a biologickou nezávadnost vajec.

Výsledky uvedené práce mají vysoce praktické uplatnění a vzhledem k tomu, že podstatná část této práce již byla publikována v prestižních vědeckých časopisech, je tato práce již nyní velkým přínosem pro celou oblast šlechtění drůbeže. Je mylné se domnívat, že všichni si koupí vejce, nebo drůbeží maso v supermarketu (kam se dodává z velkokapacitních drůbežáren), velká část produkce je naopak v malochovech a proto doporučuji v práci pokračovat a výsledky publikovat i např. v FAO časopisech.

K prezentaci výsledků nemám závažnějších připomínek. Překladatelka disertační práce splnila cíle této práce v plném rozsahu.

Diskuze je velmi dobře napsána, autorka postupně dosažené výsledky práce vhodným způsobem konfrontuje s dostupnými vědeckými poznatky a vyvozuje závěry, ze kterých je patrná vědecká vyspělost autorky.

V závěru je celá práce vyčerpávajícím a přehledným způsobem shrnuta, kde jsou zároveň rozebrána praktická využití dosažených výsledků práce. Se závěry práce souhlasím a nemám k nim zásadní připomínku.

K autorce mám dvě otázky:

- 1) Proč nezvolila k hodnocení klasického produkčního hybridu, alespoň jako kontrolu.
- 2) Proč použila ke srovnání expresních profilů antimikrobiálních peptidů pouze Magnum a ne další části vejcovodu, které hrají nezanedbatelnou roli v antimikrobiální ochraně vejce.

Závěr:

Disertační práce je výborné úrovně a lze konstatovat, že tato práce splnila veškeré požadavky kladené na tento typ práce. Vzhledem k tomu, že autorka této práce dokládá svoji profesní aktivitu v této oblasti ještě 2 vědeckými publikacemi vynikající úrovně (Journal of Experimental Zoology, Veterinary Immunology and Immunopathology) a další práce byla odeslána do Journal of Proteomic Research, není třeba více diskutovat vědeckou úroveň předložené disertační práce. Proto doporučuji, aby byla autorka této práce přijata k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení byl Mgr. Barbora Bílkové udělen akademický titul „Doktor“.

V Pohoří-Chotouni dne 13.8.2018

Ing. Pavel Trefil, DrSc.

Výzkum a Vývoj, BIOPHARM, Výzkumný ústav biofarmaci a veterinárních léčiv, a.,s.