

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chovu hospodářských zvířat



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Vliv genotypu a potravní restrikce na biochemické složení
a antimikrobiální aktivitu uropygiálních sekretů slepic**

Diplomová práce

Bc. Monika Horáková

Obor studia: Živočišná produkce

Vedoucí práce: Mgr. Veronika Gvoždíková Javůrková, Ph.D.

Konzultanti práce:

prof. Ing. Eva Tůmová, CSc.

Ing. Darina Chodová, Ph.D.

Mgr. Petr Doležal, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv genotypu a potravní restrikce na biochemické složení a antimikrobiální aktivitu uropygiálních sekretů slepic" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20.7.2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí práce Mgr. Veronice Gvoždíkové Javůrkové, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady při psaní diplomové práce. Moje další poděkování patří všem, kteří se podíleli na vypracování experimentální části diplomové práce. Můj dík si zaslouží konzultanti práce prof. Ing. Eva Tůmová, CSc., Ing. Darina Chodová, Ph.D. a Mgr. Petr Doležal, Ph.D. Dále bych pak ráda poděkovala za pomoc s analýzou mastných kyselin Ing. Adéle Fraňkové, Ph.D. a za pomoc v laboratoři Ing. Monice Okrouhlé, Ph.D. a zaměstnancům státního podniku Mezinárodní testování drůbeže v Ústrašicích.

Tato diplomová práce byla vypracována v rámci projektu NAZV QK 1910387 Kvalita a bezpečnost produkce kuřecího masa při zkrmování moučky z hmyzu, limitovaném krmení a pastvě.

Vliv genotypu a potravní restrikce na biochemické složení a antimikrobiální aktivitu uropygiálních sekretů slepic

Souhrn

Uropygiální žláza je největší mazová žláza u ptáků. Její sekrety obsahují látky s antimikrobiálním a chemosignalizačním potenciálem zajišťující optimální stav opeření a olfaktorickou komunikaci mezi jedinci i druhy. Pro testování této obranné a chemosignalizační funkce uropygiální žlázy byly provedeny detailní analýzy chemického složení uropygiálních sekretů u kuřat genotypu Ross 308 a ISA Dual. Cíle práce byly následující: i) určit relativní zastoupení mastných kyselin (MK) a těkavých organických látek (VOCs) v sekretech, ii) otestovat antimikrobiální potenciál vůči potencionálně škodlivým mikroorganismům *in vitro* a iii) experimentálně otestovat vliv restrikce krmiva, pohlaví a genotypu na velikost uropygiální žlázy a biochemické složení sekretů. Celkem bylo v uropygiálních sekretech detekováno 34 mastných kyselin a 46 těkavých organických látek, z nichž desítky nebyly v předchozích studiích dosud popsány. Bylo prokázáno, že velikost uropygiální žlázy, udávající její sekreční potenciál, se lišila v závislosti na pohlaví, avšak pouze u genotypu ISA Dual, kdy kohoutci vykazovali větší uropygiální žlázy v porovnání se slepičkami. Kohoutci ISA Dual rovněž vykazovali silnou pozitivní korelaci mezi velikostí uropygiální žlázy a relativním podílem nasycených MK, kdy u kohoutků byl tento vztah navíc intenzivnější v porovnání se slepičkami. U genotypu Ross 308 podíl nasycených MK s velikostí žlázy naopak klesal a u slepiček nebyl patrný vůbec. Jedinci genotypu ISA Dual měli v uropygiálních sekretech rovněž signifikantně vyšší relativní podíl mononenasycených i polynenasycených MK oproti Ross 308. Relativní podíl nejdominantnějších těkavých organických látek byl však naopak průkazně vyšší u jedinců genotypu Ross 308 v porovnání s jedinci ISA Dual. Vliv restrikce krmiva na biochemické složení uropygiálních sekretů stejně jako antimikrobiální potenciál vůči *Micrococcus luteus* a *Escherichia coli* nebyl prokázán. Předložená práce poukazuje na fakt, že rozdílné genotypy brojlerových kuřat mohou vykazovat zásadně rozdílné parametry v biochemii i funkci uropygiální žlázy. Tyto rozdíly jsou zřejmě způsobeny dlouhodobým šlechtěním. Prokázaná redukce antimikrobiálního a chemosignalizačního potenciálu uropygiálních sekretů komerčně chovaných brojlerových kuřat však může negativně ovlivňovat stav opeření, vést k náchylnosti k ektoparazitům, poruchám péče o opeření a ovlivňovat celkovou kondici a životní pohodu zvířat. Zhoršenou funkci uropygiální žlázy je tedy třeba kompenzovat dobrým řízením chovu a zvýšenou péčí o dobré životní podmínky zvířat.

Klíčová slova: uropygiální žláza, mastné kyseliny, těkavé organické látky, antimikrobiální kapacita, drůbež.

Role of genotype and feed restriction on biochemical composition and antimicrobial capacity of chicken preen gland secretions

Summary

The preen gland is the largest sebaceous gland in birds. Its secretions contain substances with antimicrobial and chemosignalling potential most probably providing an optimal plumage condition and olfactory communication between and within species. To test these preen gland functions in commercially produced broiler chickens, the detailed analyses of chemical composition of the preen gland secretions were performed in Ross 308 and ISA Dual breeds. Aims of this study were: i) to determine the relative proportion of fatty acids (FAs) and volatile organic compounds (VOCs) in the secretions, ii) to test the antimicrobial potential of secretions against potentially pathogenic microorganisms *in vitro* and iii) to experimentally test effect of feed restriction, sex and genotype on the size of the preen gland and the biochemical composition of its secretions. A total of 34 FAs and 46 VOCs were detected in preen gland secretions with tens of unique FAs and VOCs which have not yet been previously described in birds. It was shown that the size of the preen gland, indicating its secretory potential, varied depending on sex but only in the ISA Dual breed with the roosters had larger preen glands compared to hens. ISA Dual breed also showed a strong positive correlation between the size of the preen gland and the relative proportion of saturated FAs with this relationship being more intense in roosters compared to hens. Contrariwise, the proportion of saturated FAs decreased with the size of the preen gland in the Ross 308 roosters, while no relationship was observed in hens. Moreover, ISA Dual individuals had a significantly higher relative proportion of monounsaturated and polyunsaturated FAs in preen gland secretions compared to Ross 308 individuals. On the contrary, the relative proportion of the most dominant VOCs was significantly higher in Ross 308 compared to ISA Dual breed. The effect of feed restriction on the biochemical composition of preen gland secretions as well as antimicrobial potential of secretions against *Micrococcus luteus* and *Escherichia coli* has not been found. This study points out that different genotypes of broiler chickens fundamentally varied in parameters of preen gland biochemistry and related functions. These differences are most probably caused by long-term genetic selection during commercial breeding. Yet, such reduction in the antimicrobial and chemosignalling potential of preen gland secretions in commercially bred broiler chickens may negatively affect plumage condition, lead to higher susceptibility to ectoparasites, plumage care disorders and affect the overall chicken condition and welfare. Impaired function of the preen gland must therefore be taken into account and compensated by proper management of the chicken farm and increased care about animal well-being.

Keywords: uropygial gland, fatty acids, volatile organic compounds, antimicrobial capacity, poultry.

OBSAH

1 ÚVOD	10
2 VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE	12
3 PŘEHLED LITERATURY	13
3.1 Uropygiální žláza – anatomie, základní funkce, syntéza a chemické složení jejích výměšků (sekretů)	13
3.1.1 Morfologie a anatomie uropygiální žlázy	13
3.1.2 Péče o peří („preening“)	16
3.1.3 Chemické složení uropygiálních sekretů ptáků	18
3.1.4 Vosky	19
3.1.5 Těkavé organické látky	21
3.1.6 Ostatní sloučeniny	21
3.2 Význam uropygiální žlázy u volně žijících a komerčně chovaných druhů ptáků	22
3.2.1 Chemosignalizační funkce uropygiálních sekretů	22
3.2.2 Udržování a regulace mikrobiomu kůže a opeření	23
3.2.3 Obrana před ektoparazity ptáků	24
3.2.4 Poruchy chování spojené s péčí o opeření	25
3.2.5 Vyzobávání peří a kanibalismus	26
3.2.6 Další potenciální význam a využití uropygiálních sekretů u komerčně chovaných druhů ptáků	27
4 MATERIÁL A METODY	29
4.1 Modelové organismy	29
4.2 Experimentální design	29
4.2.1 Výkrm kuřat	29
4.2.2 Odběr vzorků	31
4.2.3 Analýza mastných kyselin	32

4.2.4 Analýza těkavých látek	32
4.2.5 Antimikrobiální aktivita proti <i>Micrococcus luteus</i>	33
4.2.6 Antimikrobiální aktivita proti <i>Escherichia coli</i>	34
4.2.7 Statistické zpracování dat	35
4.3 Chemikálie	36
4.4 Přístrojové vybavení	36
4.5 Materiál	36
5 VÝSLEDKY	38
5.1 Efekt genotypu, restrikce krmiva, pohlaví a celkové hmotnosti jedince na velikost uropygiální žlázy	38
5.2 Mastné kyseliny detekované v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat	39
5.3 Efekt testovaných proměnných na relativní podíl nasycených mastných kyselin v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat	42
5.4 Efekt testovaných proměnných na relativní podíl polynenasycených mastných kyselin v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat	43
5.5 Efekt testovaných proměnných na relativní podíl mononenasycených mastných kyselin v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat	45
5.6 Efekt genotypu, restrikce krmiva, pohlaví a velikosti uropygiální žlázy na relativní podíl dvou dominantních mastných kyselin (k. stearová a k. palmitová) v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat	46
5.7 Těkavé organické látky (VOCs = „volatile organic compounds“) detekované v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat	50
5.8 Antibakteriální aktivita proti <i>Micrococcus luteus</i>	55
5.9 Antibakteriální aktivita proti <i>Escherichia coli</i>	57
6 DISKUZE	59
6.1. Faktory ovlivňující velikost uropygiální žlázy u brojlerových kuřat	59
6.2 Výskyt MK a faktory ovlivňující obsah MK v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat	60
6.3 Analýza těkavých organických látek	61

6.4 Antimikrobní potenciál uropygiálních sekretů	63
7 ZÁVĚR	65
8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	66
9 SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY	I

1 ÚVOD

Uropygiální žláza se nachází u většiny druhů ptáků a je orgánem podobným mazovým žlázám savců. Uropygiální žláza produkuje olejovitý sekret, který je při vrozené aktivitě spojené s čištěním peří (tzv. „preening“) roztírán pomocí zobáku po celém povrchu těla. Rychlé pohyby zobáku při čištění peří umožňují regulovat v opeření počet bezkřídlého parazitického hmyzu, tzv. všenek (Phthiraptera), čímž dochází k jejich mechanickému poškození a úhynu (Clayton et al. 2005). Časté promazávání peří vede také k jeho mechanické ochraně před roztřepením a smáčením vodou, což je důležité především u vodních ptáků (Jacob & Ziswiler 1982). Nicméně hlavní funkce uropygiální žlázy spočívají v unikátním biochemickém složení jejich sekretů.

Z chemického hlediska je složení sekretů specifické pro jednotlivé druhy ptáků. Z dosavadních studií vyplývá, že hlavní složkou sekretů jsou látky, které řadíme mezi vosky, lipidy, mastné kyseliny a těkavé organické látky (VOCs – „volatile organic compounds“) (Jacob & Ziswiler 1982; Soini et al. 2007; Karlsson et al. 2010).

Obsah jednotlivých složek může v sekretech kolísat v závislosti na věku, pohlaví a ročním období (Kolattukudy & Sawaya 1974; Jacob et al. 1979; Kolattukudy et al. 1987). Jelikož se v uropygiální žláze nachází androgenové i estrogenové receptory (Daniel et al. 1977), hladina hormonů v těle ovlivňuje také koncentrace jednotlivých látek v uropygiálních sekretech (Sandilands et al. 2004). Existuje zde však také individuální variabilita v chemickém složení sekretů mezi jedinci stejného druhu.

Role a význam jednotlivých látek v uropygiálních sekretech je různá. Lipidy, uhlovodíky a některé peptidy přítomné v sekretech mají antifungicidní účinky a napomáhají v ochraně před kožními onemocněními (např. mykózami) (Bandyopadhyay & Bhattacharyya 1999). U řady druhů byly prokázány také antimikrobiální účinky sekretů, které napomáhají v udržování optimální mikrobioty v opeření ptáků (Jacob et al. 2014; Martín-Platero et al. 2006). V několika experimentálních studiích vedlo odstranění uropygiální žlázy k zásadním změnám v druhovém složení bakterií přítomných v opeření (Bandyopadhyay & Bhattacharyya 1996; Czirják et al. 2013).

Dále bylo zjištěno, že některé látky produkované uropygiální žlázou slouží ke komunikaci mezi jedinci. Především těkavé organické látky (VOCs) mohou plnit funkci feromonů a chemických signálů, čímž mohou napomáhat při výběru sexuálního partnera (Moreno-Rueda 2017) nebo poskytovat repelentní ochranu před ektoparazitami (Douglas et al. 2004).

Studium uropygiální žlázy ptáků má však svůj význam i v praxi. Antimikrobiální a antifungicidní látky obsažené v sekretech mohou nalézt své praktické uplatnění ve farmaceutickém průmyslu či medicíně. Repelentní látky a jiné těkavé organické látky s chemosignalizačním potenciálem mohou být rovněž využívány pro zajištění životní pohody zvířat v průmyslových chovech drůbeže i zájmových chovech okrasného ptactva. Syntetický analog uropygiálních sekretů MHUSA (Mother Hens' Uropygial Secretion Analogue) snižuje stres zvířat a zlepšuje ekonomické parametry chovu (Madec et al. 2008). Kromě toho bylo zjištěno, že se v sekretech uropygiální žlázy hromadí organochlorové pesticidy (Gutiérrez et al.

1998). Analýzou uropygiálních sekretů tak lze monitorovat míru znečištění životního prostředí škodlivými látkami na daném území výskytu ptačích druhů (López-Perea & Mateo 2019).

2 VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE

Předložená práce experimentálně hodnotila biochemické složení uropygiálních sekretů kura domácího. Cílem práce bylo porovnat a experimentálně otestovat faktory, které ovlivňují velikost a chemické složení uropygiálních sekretů u masného genotypu Ross 308 a genotypu s kombinovanou užitkovostí ISA Dual. Získané informace pak byly porovnány s dostupnou literaturou a byl diskutován jejich aplikační potenciál.

Předložená diplomová práce měla dva základní cíle:

A) Detailně popsat chemické složení uropygiálních sekretů u masného genotypu slepic Ross 308 a genotypu s kombinovanou užitkovostí ISA Dual se speciálním zřetelem na mastné kyseliny (MK) a těkavé organické látky (VOCs).

B) Experimentálně testovat u masného genotypu slepic Ross 308 a genotypu s kombinovanou užitkovostí ISA Dual vliv restriktce krmiva, pohlaví a jejich interakci na:

- variabilitu ve velikosti uropygiální žlázy, která přímo souvisí s množstvím produkovaných sekretů, a tedy s jejím sekretorickým potenciálem
- variabilitu v relativním množství mastných kyselin a těkavých organických látek obsažených v uropygiálních sekretech
- variabilitu v antimikrobiální aktivitě uropygiálních sekretů proti potencionálním patogenům

Vzhledem ke geneticky determinovanému většímu předpokladu pro komfortní chování („preeningu“) u kohoutů a vyšší rychlosti růstu a konverzi krmiva u genotypu Ross 308 jsme předpokládali že:

1) Velikost (objem) uropygiální žlázy bude větší u kohoutků v porovnání se slepičkami u obou testovaných genotypů.

2) Relativní podíl MK a VOCs bude vyšší u kohoutků v porovnání se slepičkami a bude vyšší u genotypu ISA Dual, které má pomalejší růst, a tedy i větší předpoklady investovat a syntetizovat MK do jiných tělních struktur než pouze do svaloviny.

3) Restrikce krmiva bude více redukovat velikost (objem) uropygiální žlázy i relativní zastoupení MK a VOCs v sekretech u pomaleji rostoucího genotypu ISA Dual, které vykazuje horší konverzi krmiva a jeho redukce se bude negativně projevovat i v syntéze MK a VOCs.

4) Antimikrobiální aktivita uropygiálních sekretů proti potencionálním patogenům *Micrococcus luteus* a *Escherichia coli* bude vyšší u kohoutků v porovnání se slepičkami a u genotypu ISA Dual, u něž se předpokládají větší investice do syntézy biochemicky aktivních látek v uropygiální žláze.

3 PŘEHLED LITERATURY

3.1 Uropygiální žláza – anatomie, základní funkce, syntéza a chemické složení jejích výměšků (sekretů)

3.1.1 Morfologie a anatomie uropygiální žlázy

Uropygiální žláza je hlavním orgánem tvorby kožního mazu u ptáků. Dalšími kožními deriváty ptáků specializovanými k tvorbě mazu jsou žlázy přítomné v ušním kanálu (Schumacher 1919; Dutta et al. 1997) a anální oblasti (Quay 1967). Kůže ptáků neobsahuje žádné jiné potní ani mazové žlázy, je tenká, elastická, volně připojená k tělu a umožňuje volnost pohybu a let (Stettenheim 2000).

Vývod uropygiální žlázy na povrch těla tvoří papila. U kura domácího (*Gallus gallus f. domestica* Linnaeus, 1758) je papila pouze jedna. Ve výjimečných případech může být papila zdvojená. Zdvojení papily má genetický základ a je ovlivněno autozomálně recesivním genem *dgp* (Somes 1991). Tvar a umístění žlázy jsou znázorněny na Obrázcích č. 1–3.

Mezi různými druhy ptáků existují značné morfologické rozdíly ve velikosti a tvaru uropygiální žlázy. Je přítomna u všech druhů ptáků v embryonálním stádiu vývoje, u některých druhů může však být v dospělosti zakrnělá. Uropygiální žláza chybí u pštrosovitých (Struthionidae), kasuárovitých (Casuariidae), emuovitých (Dromaiidae) a nanduovitých (Rheidae). Kromě zástupců podtřídy běžců (Paleognathae) ji postrádají i některé druhy z čeledi holubovitých (Columbidae) a papouškovitých (Psittacidae) (Johnston, 1988).

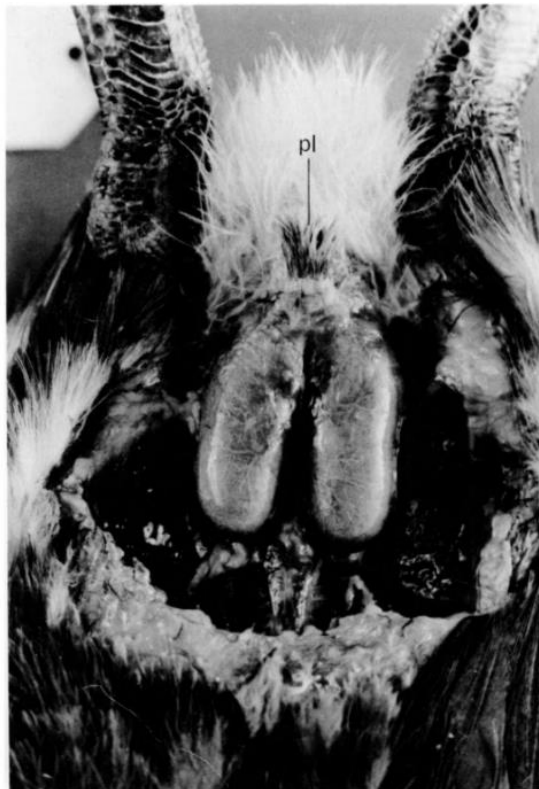
Uropygiální žláza se skládá ze dvou laloků. Lelek lesní (*Caprimulgus europaeus* Linnaeus, 1758) má pouze jen lalok (Jacob & Ziswiler 1982). U dudka chocholatého (*Upupa epops* Linnaeus, 1758) existuje ještě třetí mediální lalok, který je mnohem menší (Jacob & Ziswiler 1982). Rozličné tvary uropygiální žlázy nijak nesouvisí se způsobem života ani chováním ptáka. To však nelze říct o variabilitě ve velikosti uropygiální žlázy (Møller & Laursen 2019).

Na mezidruhové úrovni můžeme konstatovat, že vodní ptáci mají vždy velkou uropygiální žlázu (Chiale et al. 2014). To platí také pro čeledi ptáků, kteří jsou na vodní prostředí nějak vázáni, i když bývají obecně klasifikováni jako terestričtí (Jacob & Ziswiler 1982). Montalti & Salibián 2000 tuto hypotézu vyvrací a nenachází žádnou souvislost mezi velikostí žlázy a životním prostředím jedince. Obecně platí, že velikost a objem uropygiální žlázy koreluje s jejím sekretorickým potenciálem (Moreno-Rueda 2017). U menších druhů tak bývá uropygiální žláza relativně větší vzhledem k velikosti těla, jelikož i u malého jedince je povrch peří relativně větší a vyžaduje dostatečné množství sekretu. U řady druhů tomu ale tak není a toto pravidlo neplatí vždy (Jacob & Ziswiler 1982).

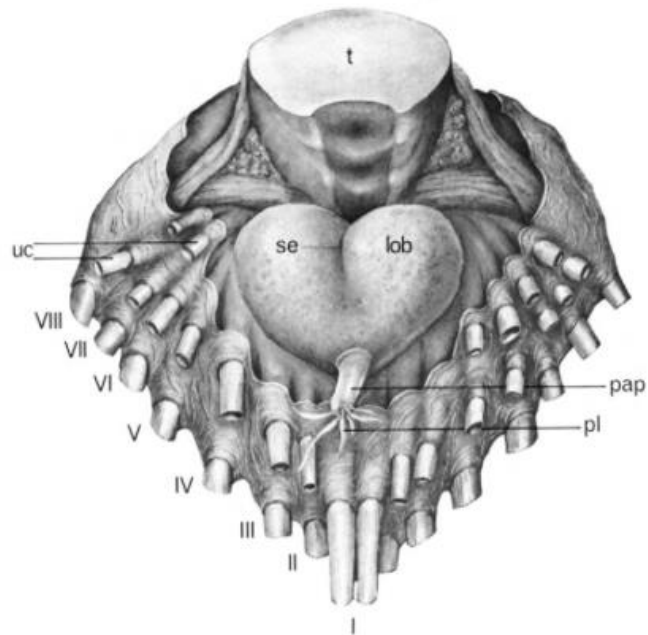
Velikost a objem uropygiální žlázy však ovlivňuje mnoho dalších faktorů, které byly studovány především na vnitrodruhové úrovni. Bylo například prokázáno, že velikost uropygiální žlázy se liší v závislosti na ročním období, kdy rozdíly v hmotnosti uropygiální

žlázy u jedinců v různých měsících roku mohou dosahovat i přes 100 % (Kennedy 1971). Největší nárůst velikosti uropygiální žlázy byl zaznamenán u mnoha druhů během hnízdním období (Golüke & Caspers 2017). Velikost uropygiální žlázy se také mění v závislosti na pohlaví (Golüke & Caspers 2017), početnosti jedinců v hnízdní populaci (Magallanes et al. 2018) či míře urbanizace, kdy jedinci z populací druhu obývajících městské a více znečištěné prostředí měli větší uropygiální žlázy v porovnání s jedinci žijícími v rurálních či méně urbánních populacích (Giraudeau et al. 2017). Podobně bylo prokázáno, že velikost uropygiální žlázy se mění spolu s fitness jedince (Magallanes et al. 2017), kdy míra infekce maláriemi (Magallanes et al. 2016) či vyšší mikrobiální zátěž v opeření (Fülöp et al. 2016; Jacob et al. 2014) hrají zásadní roli v nárůstu velikosti uropygiální žlázy.

Obrázek č. 1 – Dorzální pohled na uropygiální žlázu u potápky roháče (*Podiceps cristatus* (Linnaeus, 1758)). Převzato z Jacob & Ziswiler (1982).

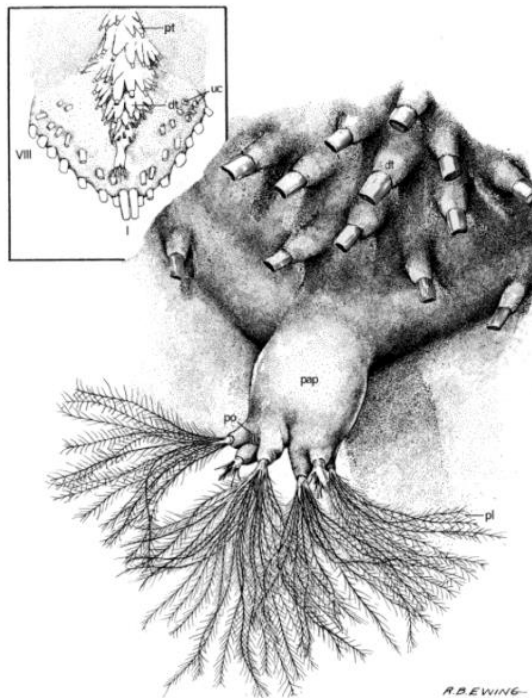


Obrázek č. 2 – Dorzální pohled na uropygiální žlázu u leghornky bílé (převzato z Jacob & Ziswiler 1982).



t – příčný řez ocasem, pap – papila, lob – lalok uropygiální žlázy, se – přepážka oddělující jednotlivé laloky

Obrázek č. 3 – Dorzální pohled na vývod uropygiální žlázy u leghornky bílé (převzato z Jacob & Ziswiler 1982).



3.1.2 Péče o peří („preening“)

Při aktivitě spojené s čištěním peří (tzv. „preening“) si ptáci roztírají sekret uropygiální žlázy po celém těle. Tento sekret chrání peří nejen před smáčením vodou a mechanickým opotřebením, ale tvoří i ochrannou bariéru peří a kůže před pronikáním škodlivých mikroorganismů (Møller et al. 2009).

Lipidy přítomné v peří a kůži ptáků nejsou pouze produkty uropygiální žlázy, ale jsou zčásti produkovány také samotnými buňkami pokožky (Freinkel 1972a; 1972b). Pokožka ptáků je složena z unikátních buněk, které se označují jako sebokeratinocyty (sebum = kožní maz, keratinocyt = pokožková buňka) (Elias et al. 1987). Sebokeratinocyty netvoří strukturálně oddělené mazové žlázy, někteří autoři proto považují celý povrch těla ptáků jako funkční holokrinní orgán (Menon et al. 1981).

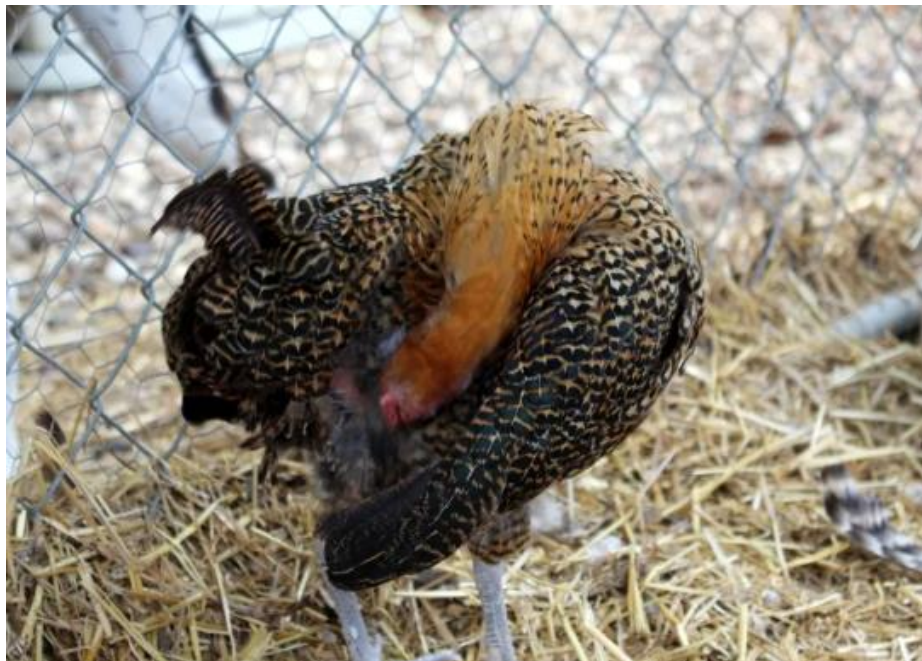
Lipidy produkováné samotnou pokožkou spolu s uropygiálními sekrety vytváří ochrannou mechanickou bariéru kůže a přispívají k udržení její vláčnosti. Největší význam sebokeratinocytů spočívá v promazávání míst, která není možno ošetřit při čištění peří, například oblast hlavy a hřebínku (Lucas 1968; Lucas 1970). V místech bez opeření probíhá nejvyšší syntéza lipidů samotnou pokožkou, v opeřených částech těla má tvorba lipidů kůži pouze okrajový význam (Menon & Menon 2000).

Péče o peří je důležitá složka komfortního chování, která ptákům zabere značný čas. Například racek žlutohý (*Larus fuscus* Linnaeus, 1758) během období rozmnožování stráví čištěním peří celých 15 % dne (Delius 1970). Bokkers & Koene 2003 měřili čas, který stráví péčí o peří kuřata chovaná na maso. Do šestého týdne je to u rychle i pomalu rostoucích brojlerů okolo 6 % času. Od 7. týdne života se rychle rostoucí brojleři věnují této aktivitě 9 % celkového času, u pomalu rostoucích kuřat se čas věnovaný péči o peří zvýší jen nepatrně (z 6,1 na 6,3 % Bokkers & Koene 2003). Nosnice se péčí o peří věnují v průměru dvakrát za den. Toto komfortní chování se u nosnic objevuje do tří hodin po začátku a před koncem fotoperiody. Zobákem slepice vytlačí uropygiální sekret a několika pohyby jej roztírá po peří. Počet pohybů, které slepice vykoná, je různý. Van Liere et al. 1991 uvádí jako medián 5 pohybů, kdy slepice roztírá sekret při údržbě peří. Oblast prsou je promazána jako první a je jí věnována největší péče. Později slepice roztírá sekret také na boky a křídla. Zadní část těla a ocas jsou promazávány spíše výjimečně. U racků stříbřitých (*Larus argentatus* Pontoppidan, 1763) je stejně jako u slepic promazána oblast prsou největším množstvím sekretu (van Rhijn 1977). Průběh péče o peří u různých druhů je znázorněn na Obrázku č. 4 a 5.

Obrázek č. 4 – Ukázka péče o peří u papouška (Hagen Avicultural Research Institute. 2019. Available from <https://hari.ca/avian-care/early-parrots-education/epe-for-the-companion-parrot-owner/misting-preening-education/> accessed May 2019).



Obrázek č. 5 – Péče o peří u kura domácího (Available from <http://www.countingmychickens.com/molting-why-your-chickens-are-losing-their-feathers/> accessed May 2019).



U vodních ptáků či vodní drůbeže je „preening“ velmi zásadní. Takto udržované peří jim zajišťuje mechanickou ochranu, ochranu před smáčením (Rijke 1987), ale také například mrazem (Russell et al. 1981; Nye 1964). Struktura peří v kombinaci s ochrannými oleji tvoří vzduchovou izolační vrstvu a zajišťuje voděodolnost (Nye, 1964). Znemožníme-li vodní drůbeži přístup k uropygiální žláze, jejich peří se postupně stane křehké a lámavé. Po 10 dnech není efekt znatelný, po uplynutí 3 měsíců dojde k značnému zhoršení stavu opeření (Giraudeau et al. 2010). Degradace peří v nepřítomnosti ochranných olejů uropygiální žlázy byla experimentálně potvrzena také u holuba skalního (*Columba livia* Gmelin, 1789; Moyer et al. 2003).

Nicméně je nutno podotknout, že péče o peří a „preening“ má také své negativní aspekty. Jedním z nich je riziko nákazy virovými chorobami. U vodní drůbeže se viry totiž mohou absorbovat na peří chráněné uropygiálními sekrety. Virus ptačí chřipky se z kontaminované vody dostává na povrch těla, kde se díky sekretům koncentruje. Zvýšené koncentrace se dostanou do zobáku a mohou způsobit nákazu ptačí chřipkou. Škubání peří nakažené drůbeže je tedy rizikovou aktivitou a může vést k přenosu nemoci i na člověka (Delogu et al. 2010).

Nadbytečný maz z peří může být odstraňován při popelení (Duncan 1980; Olsson & Keeling 2005), kdy jsou lipidy pohlceny prachovými částicemi. Pohybem ptáka jsou pak prachové částice vytřeseny z peří společně s přebytečným mazem. Pokud ptáci nemají možnost se popelit, může se to projevit zhoršenou kondicí jejich opeření. Například křepel virginský (*Colinus virginianus* Linnaeus, 1758) získá po 5 dnech mastný olejovitý vzhled (Borchelt et al. 1973). Při popelení jsou rovněž odstraňovány staré zoxidované lipidy, které jsou hlavní potravou roztočů žijících v peří (Acari: Astigmata) (Borchelt & Duncan 1974; Clayton et al. 2010). Popelením je tak odstraňován zdroj potravy pro roztoče, který má za následek snížení jejich počtu (Borchelt & Duncan 1974). Roztoči živící se uropygiálními sekrety peří svého hostitele zpravidla neovlivňují (Blanco et al. 1997; Blanco et al. 2001). Při jejich přemnožení však mohou zhoršovat stav opeření (Atyeo & Gaud 1987) a způsobovat hospodářské ztráty u drůbeže (Mironov 2013).

3.1.3 Chemické složení uropygiálních sekretů ptáků

Uropygiální sekrety ptáků tvoří chemicky složitou směs lipidů a dalších látek. Hlavní složkou jsou estery vosků. V sekretech byly dále detekovány uhlovodíky, triglyceridy, steroly, volné mastné kyseliny a alkoholy (Jacob 1975). Rozhodně je nutno podotknout, že sekrety mazových žláz mají specifické složení. Jsou především unikátním zdrojem vzácných lipidů, které se liší od ostatních druhů lipidů v těle, například zásobního tuku (Lillard & Toledo 1976) a které se jinde v těle nevyskytují (Saito & Gamo 1968). Obecně lze říct, že se jejich chemické složení liší na mezidruhové úrovni a jejich analýza tak může posloužit k objasnění fylogenetických vztahů mezi ptačími druhy (Jacob & Ziswiler 1982).

Chemické složení sekretů může být ovlivněno řadou faktorů. Jsou jimi například variabilita mezi jedinci (Karlsson et al. 2010), věk (Kolattukudy & Sawaya 1974), pohlaví (Jacob et al. 1979), roční období (Fischer et al. 2017; Kolattukudy et al. 1987) či potrava

(Apandi & Edwards 1964). Je však nutno podotknout, že studiu faktorů ovlivňujících chemické složení uropygiálních sekretů byla doposud věnována velmi malá pozornost a množství studií je tak omezené.

3.1.4 Vosky

Vosky jsou estery vyšších mastných kyselin a vyšších jednosytných alkoholů. Uropygiální sekrety většiny druhů jsou tvořeny vosky, z nich nejčastějšími jsou monoestery vosků. Monoestery vosků jsou přítomny u pěvců (Poltz & Jacob 1974; Poltz & Jacob 1975; Jacob & Grimmer 1975) a zástupců mnoha dalších řádů. Jejich přehled je uveden v Tabulce č. 1.

Tabulka č. 1 – Přehled ptačích řádů, u nichž bylo v uropygiálních sekretech prokázáno dominantní zastoupení monoesterů vosků.

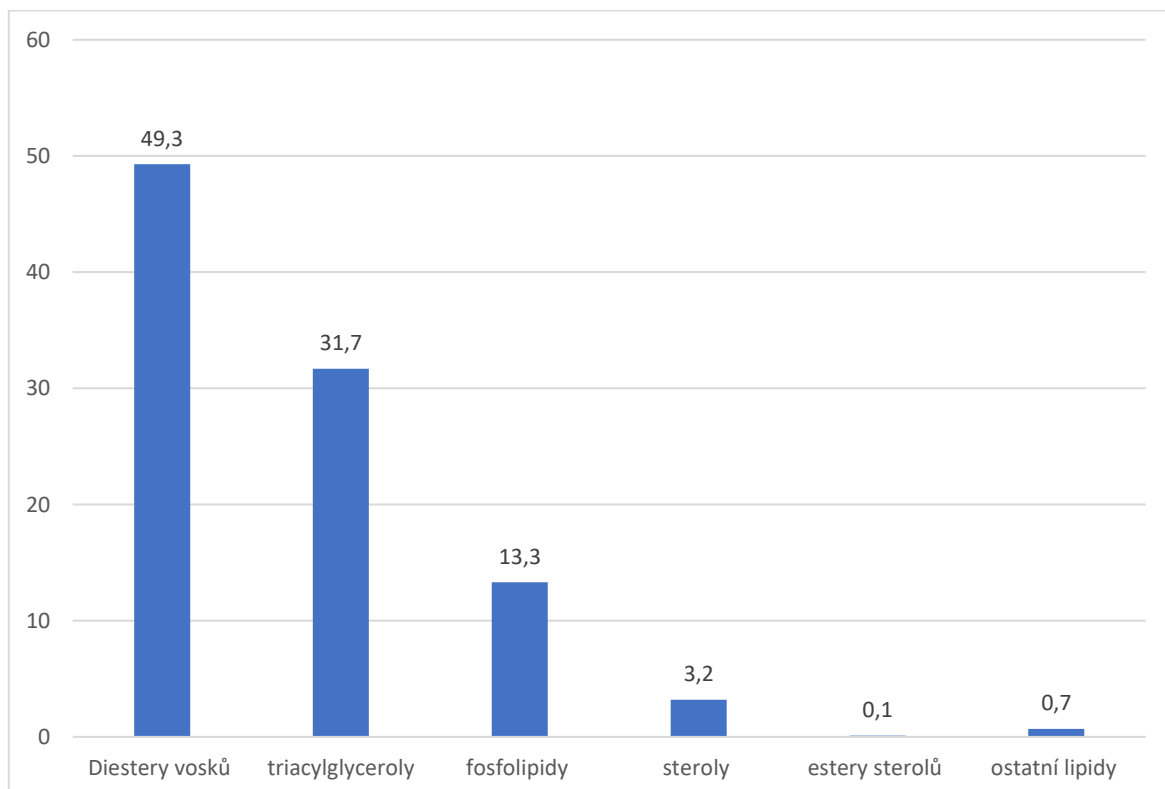
Název ptačího řádu	Reference
tučňáci (Sphenisciformes)	Jacob 1976a
potápky (Podicipediformes)	Jacob 1978a
trubkonosí (Procellariiformes)	Jacob 1976b
brodiví (Ciconiiformes)	Jacob 1976c; Jacob 1978b
plameňáci (Phoenicopteriformes)	Jacob & Hoerschelmann 1985
vrubozobí (Anseriformes)	Edkins & Hansen 1976; Jacob & Glaser 1975
pěvci (Passeriformes)	Poltz & Jacob 1974; Poltz & Jacob 1975; Jacob & Grimmer 1975
dravci (Accipitriformes)	Jacob & Poltz 1975a
sokoli (Falconiformes)	Jacob & Poltz 1975a
krátkokřídlí (Gruiformes)	Jacob & Poltz 1975b; Jacob et al. 1979
dlouhokřídlí (Charadriiformes)	Jacob 1978c; Fischer et al. 2017; Fischer et al. 2020
papoušci (Psittaciformes)	Jacob & Poltz 1974a
šplhavci (Piciformes)	Jacob & Poltz 1974b
kukačky (Cuculiformes)	Jacob 1977
srostloprstí (Coraciiformes)	Jacob 1978d
sovy (Strigiformes)	Jacob & Poltz 1974c

U různých druhů ptáků se v sekretech nachází jedna nebo více skupin esterů vosků. Kromě monoesterů mohou být v sekretech přítomny také diestery nebo triestery vosků. Estery vosků mohou být v sekretech zastoupeny v různém poměru. Například čápoovití (Ciconiidae) mají v sekretech zastoupeny monoestery, diestery i triestery (Jacob & Raab 1996), u kachyní *Tachyeres* sp. byly detekovány monoestery a diestery (Livezey et al. 1986).

Koncentrace esterů vosků může během roku kolísat. U jespáka rezavého (*Calidris canutus* (Linnaeus, 1758)) dochází během odletu na místa hnízdění k rapidní změně ve složení sekretů (Piersma et al. 1999). Během jednoho týdne jsou monoestery vosků nahrazeny diestery s vyšší molekulární hmotností. Náhlá změna složení má za cíl zvýšit lesk a zlepšit vzhled peří, což má pomoci při výběru potenciálních partnerů (Piersma et al. 1999). Jiná studie ale vliv sekretů na vizuální vzhled peří nepotvrdila (Reneerkens & Korsten 2004). Dalším možným vysvětlením změny ve složení sekretů je ochrana hnízda před predátory. Diestery vosků jsou mnohem méně těkavé než monoestery a jsou tím hůře detekovatelné pro olfaktoricky se orientující predátory, kteří by mohli ohrozit hnízdo s mláďaty. (Reneerkens et al. 2005). Podobné změny ve složení sekretů byly zaznamenány také u několika druhů z čeledi slukovití (Scolopacidae, Reneerkens et al. 2002).

U hrabavých se v sekretech nachází diestery vosků a to konkrétně alkan-2,3-dioly. Alkan-2,3-dioly se v kombinaci s jinými diestery vyskytují také u kiviů (Apterygiformes). Diestery vosků zastoupené v sekretech svědčí o příbuzenském vztahu mezi řády kiviové a hrabaví (Jacob 1982). U kura domácího tvoří diestery vosků až 97,3 % uropygiálních lipidů (Hansen et al. 1969). Wertz et al. 1986 uvádí nižší obsah, a to 49,3 %. Další dominantní složkou jsou triacylglyceroly (31,7 %) a fosfolipidy (13,3 %) (Wertz et al. 1986). Procentuální zastoupení lipidů v uropygiálních sekretech kura domácího ukazuje Graf č. 1. Přehled složení uropygiálních sekretů kura domácího, které bylo doposud prokázáno v předchozích studiích, je uvedeno v Příloze č. 1.

Graf č. 1 – Složení lipidů (% hmotnosti) v uropygiálním sekretu kura domácího (Wertz et al. 1986).



3.1.5 Těkavé organické látky

V sekretech uropygiální žlázy byly objeveny rovněž těkavé organické sloučeniny (VOCs – „volatile organic compounds“), které přispívají k charakteristickému zápachu ptáků (Haribal et al. 2009; Soini et al. 2007). Těkavé sloučeniny slouží k chemické signalizaci mezi jedinci a uplatňují se například při volbě sexuálního partnera (Bonadonna & Sanz-Aguilar 2012). U špačka černého (*Sturnus unicolor* Temminck, 1820) a andulky vlnkované (*Melopsittacus undulatus* (Shaw, 1805)) bylo potvrzeno, že jedinci dokáží rozlišit pohlaví jedinců svého druhu pouze na základě čichu (Amo et al. 2012; Zhang et al. 2010).

Řada ptačích druhů má velmi dobře vyvinutý čich (Steiger et al. 2008). To platí i pro kura domácího, jehož genom obsahuje nejméně 229 genů pro čichové receptory (Lagerström et al. 2006). Množství důkazů naznačuje, že sekrety uropygiální žlázy slouží k chemické komunikaci mezi jedinci (Jacob et al. 1979). Mladá housata husy domácí (*Anser anser f. domestica* (Kerr, 1792)) dokážou rozlišit zápach sekretu svojí matky od jiných hus (Würdinger 1982). Samotné vosky uropygiálních žláz nejsou příliš těkavé. Po jejich rozetření na peří jsou však částečně rozloženy a jednotlivé složky by mohly sloužit jako feromony (Jacob et al. 1979). Feromony jsou chemické látky, které se uplatňují při vnitrodruhové komunikaci mezi jedinci.

Těkavé látky slouží také k chemické komunikaci mezi různými živočišnými druhy. Kairomony jsou látky, které přinášejí užitek příjemci signálů jiného druhu. Uropygiální sekrety mají funkci kairomonů. Přitahují komáry, muchničky a další bodavý hmyz. Těkavé látky z peří spolu s vydechovaným oxidem uhličitým umožňují hmyzu identifikovat potencionální oběť. Komáři *Culex* sp. a (*Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)) se při výběru řídí chemickými signály, kdy některé druhy mají silnou preferenci pro ptáky (Allan et al. 2014; Williams et al. 2003; Russell & Hunter 2005). Naproti tomu druhy adaptované na člověka jsou silně přitahovány těkavými látkami z lidské pokožky (Bernier et al. 2003). Muchničky *Simulium* sp. jsou v největší míře přitahovány kombinací CO₂ a extrakty uropygiálních sekretů přirozených ptačích hostitelů. Samotný oxid uhličitý má menší efekt, avšak uropygiální extrakt bez CO₂ není pro muchničky přitažlivý (Fallis & Smith 1964).

Některé těkavé látky v uropygiálních sekretech mohou mít repelentní efekt a ektoparazity odpuzovat (Douglas et al. 2004). Tyto vlastnosti byly prokázány u karboxylových kyselin s počtem uhlíků 6 až 12 (Douglas et al. 2001) a aldehydů (hexanal, oktanal a dekanal; Hwang et al. 1982).

3.1.6 Ostatní sloučeniny

V uropygiálních sekretech jsou rovněž zastoupeny uhlovodíky. Z uhlovodíků byl v uropygiálních sekretech kura domácího detekován především terpen skvalen. Skvalen je meziprodukt biosyntézy cholesterolu a steroidních hormonů. Kromě toho má mnoho dalších významných vlastností, čehož se využívá v kosmetickém průmyslu. Zvlhčuje pokožku a využívá se v kosmetických přípravcích a hydratačních gelech (Huang et al. 2009). Je

syntetizován v mazových žlázách savců a byl nalezen také u řady ptačích druhů. V uropygiálních sekretech některých ptáků může tvořit významný podíl (Haribal et al. 2009; Edkins & Hansen 1972; Livezey et al. 1986). U člověka tvoří skvalen podstatnou složku kožního mazu, zatímco u domácích savců a drůbeže byl nalezen pouze ve stopových množstvích (Nicolaidis et al. 1968). Skvalen má také účinky antifugální (Duriati et al. 1993) a působí protinádorově (Rao et al. 1998; Smith 2000). V sekretech kura domácího působí velmi pravděpodobně jako jedna ze složek v ochraně proti plísňovým infekcím (Bandyopadhyay & Bhattacharyya 1999).

3.2 Význam uropygiální žlázy u volně žijících a komerčně chovaných druhů ptáků

3.2.1 Chemosignalizační funkce uropygiálních sekretů

Čichové vnímání ptáků bylo v minulosti dlouho podceňováno. Nyní se ukazuje, že čich je pro ptáky důležitý a uplatňuje se v celé řadě situací. Ptáci využívají čich při hledání potravy (Grubb 1972; Hutchison & Wenzel 1980), vyhýbání se predátorům (Mahr & Hoi 2018) nebo orientaci hnízda (Grubb 1979). Čichové vnímání má význam také při rozmnožování (Balthazart & Taziaux 2009). Chemosignalizační funkce uropygiálních sekretů byla prokázána u řady druhů, kdy uropygiální sekrety nesou informaci o pohlaví jedince (Zhang et al. 2009; Tuttle et al. 2014) nebo jedincům dokážou určit či prozradit genetickou příbuznost a vhodnost jedince jako sexuálního partnera (Bonadonna & Sanz-Aguilar 2012; Grieves et al. 2019; Leclaire et al. 2014).

Tato potencionální role uropygiální žlázy v chemické komunikaci byla kromě volně žijících ptáků prokázána také u kura domácího. V experimentální studii si kohouti k páření přednostně vybírali slepice, kterým nebyla uropygiální žláza odstraněna, zatímco o slepice s odstraněnou žlázou měli mnohem menší zájem. Mezi oběma skupinami slepic rovněž existovaly značné rozdíly v počtu kopulací (Hirao et al. 2009).

Sandilands et al. (2004) zjistili, že složení uropygiálních sekretů se u kura domácího liší v závislosti na věku, což je pravděpodobně způsobeno změnami v koncentracích hormonů. Zaznamenali také rozdíly v zastoupení mastných kyselin u ptáků, kteří byli obětmi vyzobávání peří. V jiné studii však toto nebylo prokázáno. Naopak zjistili, že každý exemplář kura bankivského (*Gallus gallus* Linnaeus, 1758) má svůj individuální tělesný pach a jedinci se navzájem liší v koncentracích alifatických mastných kyselin. Mezi ptáky, kteří byli obětmi vyzobávání peří, a kontrolou však nenašli žádné rozdíly ve složení sekretů. (Karlsson et al. 2010).

Tyto studie potvrzující olfaktorický význam uropygiálních sekretů u drůbeže vedly k vyvinutí syntetického analogu uropygiálních sekretů (Pageat 2010). Tato směs obsahuje mastné kyseliny a další látky, které mají napodobovat přirozený tělesný pach slepic. Vynález byl patentován a je známý pod názvem MHUSA (Mother Hens' Uropygial Secretion Analogue).

Syntetický analog uropygiálního sekretu MHUSA zlepšuje ekonomické parametry i welfare zvířat na farmách. Použití MHUSA na drůbežích farmách snižuje stres a zlepšuje růst. Jatečná těla brojlerů měla při použití MHUSA vyšší hmotnost. Docházelo k nižšímu výskytu střetu mezi zvířaty, což se projevilo menším množstvím jizev na jatečném těle (Madec et al. 2008).

3.2.2 Udržování a regulace mikrobiomu kůže a opeření

Peří je z 90 % tvořeno proteinem keratinem (Saucedo-Rivalcoba et al. 2011). Keratin dodává peří pevnost a odolnost, zajišťuje stabilitu vůči působení vody, chemických látek a enzymů (Bradbury 1973). Existují mikroorganismy, které dokážou štěpit disulfidické můstky v keratinu pomocí enzymů keratináz (Shih 1993; Williams et al. 1990).

Schopnost štěpit keratin byla zaznamenána u bakterií i hub (Abdel-Fattah 1982; Kaul & Sumbali 1997). Bakterie se schopností štěpit keratin se nazývají keratinolytické a vyskytují se kosmopolitně v prostředí, např. vodě a půdě (Bach et al. 2011; Lucas et al. 2003; Govinden & Puchooa 2012). Svým účinkem tak mohou ptačí peří rozkládat a ničit, což bylo experimentálně v mnoha studiích prokázáno (Gupta & Ramnani 2006). Příkladem takového druhu je např. *Bacillus licheniformis*, který patří mezi nejčastější a hojně se vyskytuje na peří i pokožce volně žijících ptáků (Burt & Ichida 1999; Muza et al. 2000).

Struktura a pevnost peří je dána přítomností pigmentů. Černé peří je tvrdší a odolnější (Bonser & Witter 1993) a také méně náchylné k bakteriální degradaci (Goldstein et al. 2004). Barevné pigmenty charakteristické pro papoušky (psittacofulviny) také snižují účinek peří rozkládajících bakterií (Burt et al. 2011).

Možné komerční využití keratinolytických bakterií je recyklace ptačího peří z chovu drůbeže. V době porážky mívají komerční brojleři na těle asi 50 g peří (Leeson & Walsh 2004). Světová roční produkce peří z chovu drůbeže se odhaduje asi na 4 miliony tun za rok (Ricke 2017). Peří představuje odpad, který je pálen nebo skladován na skládkách (Sinkiewicz 2017). V rozvojových zemích bývá peří z chovů volně pohozeno u cest, stává se úkrytem hlodavců a představuje tak ohrožení zdraví a bezpečnosti (Govindarajan et al. 2016). Účinkem keratinolytických bakterií může být peří přeměno na bioplyn (Forgács et al. 2011; Salminen et al. 2003) nebo proteinový doplněk zvířecích krmiv (Bertsch & Coello 2005).

Sekrety uropygiální žlázy mohou napomáhat v ochraně peří před bakteriemi s keratinolytickým účinkem (Shawkey et al. 2003). Bylo popsáno několik mechanismů, jak k tomu dochází. Degradaci peří může být zabráněno produkcí látek s antimikrobiálním účinkem (Ruiz-Rodríguez et al. 2013; Martín-Platero et al. 2006). Ty jsou syntetizovány symbiotickými bakteriemi, které žijí v uropygiální žláze (Martín-Vivaldi et al. 2009). Přítomnost symbiotických bakterií ve žláze byla prokázána u dudka chocholátého (*Upupa epops* Linnaeus, 1758; Ruiz-Rodríguez et al. 2009).

U jiných druhů je degradaci peří zabráněno nanesením ochranné vrstvy sekretu, která zhorší přístup keratinolytických bakterií k vlastní struktuře peří. Uropygiální sekret drozda olivovohnědého (*Turdus nudigenis* Lafresnaye, 1848) vytváří po rozetření na peří ochrannou vrstvu a tímto účinně zabraňuje rozkladu peří bakteriemi (Verea et al. 2017). V tekutém médiu

nebyl bakteriostatický účinek prokázán, ochrana peří pomocí sekretů uropygiální žlázy u tohoto druhu proto nejspíše spočívá ve vytvoření fyzické bariéry (Verea et al. 2017).

U vrabce domácího (*Passer domesticus* (Linnaeus, 1758)) nebyl prokázán nižší výskyt keratinolytických bakterií po odstranění uropygiální žlázy. Odstranění uropygiální žlázy ale vedlo k celkovému zvýšení počtu bakterií v peří. Antibakteriální účinek sekretů je proto s velkou pravděpodobností širokospektrální a pomáhá tak ptákům v ochraně před potenciálně škodlivými druhy (Czirják et al. 2013).

Rovněž u chovaných druhů drůbeže ovlivňuje uropygiální žláza druhové zastoupení bakterií na kůži a v peří. Druhy bakterií, které se nachází na kůži prsou dospělých leghornek, jsou *Staphylococcus epidermidis*, *Sarcina lutea*, *Streptomyces* sp. a příležitostně také zástupci rodu *Coranobacterium*. *Staphylococcus epidermidis* je nejhojnějším druhem. Po odstranění uropygiální žlázy dochází výrazným změnám. Populace *Staphylococcus epidermidis*, *Streptomyces* sp. a *Coranobacterium* sp. se radikálně sníží. Kůži ptáků začnou kolonizovat nové druhy, a to *Staphylococcus aureus* a *Proteus* sp. Po 60 dnech po odstranění žlázy se nejhojnějším bakteriálním druhem stává *Bacillus* sp. Uropygiální žláza tedy významně ovlivňuje složení mikrobiomu peří a její odstranění vede ke změnám v druhovém složení bakterií (Bandyopadhyay & Bhattacharyya 1996).

3.2.3 Obrana před ektoparazity ptáků

Chovaná drůbež i volně žijící ptáci jsou často napadáni různými druhy parazitů. Častými ektoparazity jsou roztoči (Acari, Brady 1970; Horn et al. 2016). Některé druhy sají krev, jiní se živí částicemi kůže, peří a dalšími organickými zbytky (Fain 1994). Krev sající roztoči mohou přenášet bakteriální i virová onemocnění (Moro et al. 2009; Chirico et al. 2003).

Cizopasní roztoči z řádu čmelíkovci Mesostigmata působí celosvětově největší hospodářské škody (Mullens et al. 2009). V evropských chovech je ekonomicky nejzávažnějším ektoparazitem drůbeže čmelík kuř (*Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778); Chauve 1998; Sparagano et al. 2009; Sparagano et al. 2014). V USA působí největší ekonomické ztráty roztoč čmelíkovec ptačí (*Ornithonyssus sylviarum* (Canestrini & Fanzago, 1877); Mullens et al. 2009; Axtell & Arends 1990; Murillo & Mullens 2016). Čmelíci jsou vážným problémem a postihují velkochovy i malochovy (Fiddes et al. 2005; Höglund et al. 1995). V alternativních chovech a chovech s volným výběhem je výskyt čmelíků vyšší v důsledku množství úkrytů a nemožnosti jejich eliminace v podestýlce (Höglund et al. 1995; Fossum et al. 2009). Čmelíci se živí krví drůbeže. V případě silného napadení mohou způsobit anémii a smrt (Chauve 1998). Způsobují také úbytek hmotnosti, pokles snášky, neklid a svědění (Sparagano et al. 2014). Zamoření prostředí čmelíky vede ke změnám v chování. Ptáci stráví více času péčí o opeření, v napadených hejnech dochází k vyššímu výskytu vyzobávání peří a kanibalismu (Kilpinen et al. 2005; Sparagano et al. 2014). Péče o peří může mírnit podráždění způsobené krev sajícími parazity. U látek napodobujících složení sekretů (syntetický sekret uropygiální žlázy) byl zaznamenán zklidňující efekt, který zmírňuje bolest a zánět (Opel 1986).

U komerčně chovaných druhů drůbeže i volně žijících ptáků cizopasí velké množství dalších druhů ektoparazitů, jejich hospodářský význam je však menší (DeVaney 1978). Řád vši a všenky (Phthiraptera) zahrnuje asi 4900 druhů s celosvětovým rozšířením (Smith et al. 2004). Péče o peří pomáhá regulovat počty všenek. U holubů s deformací zobáku znemožňující efektivní čištění peří byl zaznamenán nárůst počtu všenek v peří (Clayton et al. 1999). Zkracování zobáků nosnic vede ke zvýšení počtu všenek i čmelíkovců v peří (Vezzoli et al. 2015). Normální tvar zobáku umožňuje při čištění peří mechanické poškození exoskeletu parazitů, kteří následně hynou (Chen et al. 2011; Clayton et al. 2005). Ke snížení počtu parazitů vede také vzájemná péče o peří (Brooke 1985). Vzájemná péče o peří je nejčastěji cílena na oblast hlavy a krku, kterou si jedinec nedokáže ošetřit sám (Radford & Du Plessis 2006). U tučňáků *Eudyptes* sp. umožňuje vzájemná péče o peří snížit počet klíšťat (*Ixodes uriae* White 1852; Brooke 1985). Kromě toho má i sociální funkci a napomáhá upevnění vztahů mezi jedinci (Kenny et al. 2017).

Péče o peří jiného jedince není univerzální projev chování a vyskytuje se pouze u některých druhů (Harrison 1965). Namísto toho existuje u řady pěvců alternativní způsob ochrany peří. Jedinci si zobákem vytlačí sekret uropygiální žlázy, který nanesou na chodidlo. Nohou si následně škrábou hlavu, což umožňuje promazání i špatně přístupných částí těla (Simmons 1961). Škrábání spolu s čištěním peří efektivně snižuje počet všenek (Goodman et al. 2020).

Těkavé látky přítomné v uropygiálním sekretu mohou poskytovat ochranu před ektoparazity. U některých ptačích druhů byl zaznamenán odpuzující účinek sekretů na klíšťata (Douglas 2006), všenky (Douglas 2006) nebo komáry (Douglas et al. 2005).

3.2.4 Poruchy chování spojené s péčí o opeření

U zvířat chovaných v zajetí může docházet k poruchám chování. Poruchy chování se vyskytují u zvířat na farmách, v zoologických zahradách, u domácích mazlíčků i zvířat chovaných pro laboratorní výzkum (Mason & Rushen 2006). Tyto poruchy mohou mít zásadní dopady u zvířat na farmách a ovlivňovat také ekonomiku chovu (Franchi et al. 2016; González et al. 2018). Poruchy chování u laboratorních hlodavců mohou navíc ovlivnit výsledky studií a vést k nesprávným závěrům (Garner et al. 2003a).

Přehnaná péče o peří je porucha chování, která se často vyskytuje u papoušků. Odhaduje se, že asi u jednoho z deseti chovaných papoušků se během života vyvine patologická forma péče o peří (Grindlinger 1991). Příčiny tohoto chování jsou sociální izolace, nedostatečná výživa, nuda a nedostatek podnětů. Repetitivní chování zvířat bylo navrženo jako vhodný model pro studium a léčbu obsedantně kompulzivních poruch u lidí. Většina zvířecích modelů byla následně opuštěna, některé se stále využívají (Joel 2006). Garner et al. (2003b) prokázali, že stereotypie u zvířat nejsou vhodným modelem pro studium obsedantně kompulzivních poruch v lidské populaci. Objevili však, že biologický mechanismus vzniku stereotypního chování u papoušků je obdobný jako u repetitivního chování pozorovaného u pacientů se schizofrenií nebo autismem. Garner et al. (2003b) dále zdůrazňují vliv prostředí, kdy

nevyhovující prostředí zhoršuje četnost výskytu i intenzitu repetitivních poruch u lidí i zvířat. Stereotypie u zvířat je indikátorem frustrace a psychické nepohody v důsledku nevyhovujícího ustájení. Obohacení prostředí u papoušků vede ke snížení výskytu těchto poruch (Meehan et al. 2003).

3.2.5 Vyzobávání peří a kanibalismus

V chovu drůbeže je studiu vyzobávání peří a kanibalismu věnována velká pozornost. Vyzobávání peří představuje problém z hlediska životní pohody zvířat a způsobuje také značné ekonomické ztráty. Za normální chování u slepic se považuje stav, kdy slepice zobou do jedlých i nejedlých substrátů. V ochuzeném prostředí, kde slepice nemají dostatek příležitostí projevit potravní chování, se zvyšuje četnost vyzobávání peří jiných slepic (Blokhuys 1986). Pokud slepicím poskytneme dostatek slámy nebo jiného materiálu, četnost vzájemného vyzobávání peří slepic se sníží (Huber-Eicher & Wechsler 1997).

Vyzobávání peří se vyskytuje ve všech formách ustájení slepic. Někdy bývá rozlišován mírný a těžký průběh této poruchy chování. Při volném způsobu ustájení mají slepice přístup k velkému množství potenciálních obětí. Ve velkém hejnu také není možné snadno identifikovat jedince, kteří napadají ostatní. Vytrhávání per je pro ptáky bolestivé a svědčí o nenaplněných etologických potřebách v hejnu. Způsoby, které se snaží zmírnit tento negativní jev, jsou zkracování zobáků a snížené osvětlení.

Zkrácení zobáku je zdrojem akutní i chronické bolesti. Z hlediska životní pohody zvířat by mělo být zkrácení zobáku provedeno co nejdříve. Zobák by měl být zkrácen o 50 % a méně (Kuenzel 2007). Zkrácení zobáku hned první den po vylíhnutí má nejméně negativních následků. Je ho však třeba vnímat jako zmírňující opatření, které neřeší příčiny vyzobávání peří a poruch chování (Gentle et al. 1997).

V ekologickém zemědělství se rutinní zkracování zobáků neprovádí. Tyto operace mohou být v jednotlivých případech povoleny příslušným orgánem, pokud mají za cíl zlepšit zdraví, životní podmínky či hygienu zvířat. Podrobnosti stanovuje Nařízení Komise (ES) č. 889/2008 ze dne 5. září 2008, kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 834/2007 o ekologické produkci a označování ekologických produktů, pokud jde o ekologickou produkci, označování a kontrolu.

Jasně světlo zvyšuje atraktivitu peří a vede k větší pohybové aktivitě ptáků. Světelný režim by měl proto odrážet podmínky chovu. Intenzivní světlo lze použít pouze v chovech, kde nejsou problémy s těžkými formami vyzobávání peří a s kanibalismem (Green et al. 2000). Nedostatečné osvětlení může negativně ovlivnit vývoj očí (Prescott et al. 2003).

Alternativou klasických metod je postřik peří odpuzujícími látkami. Sníží se tím vytrhávání a konzumace peří. V úvahu přicházejí pouze netoxické látky, obvykle přírodního původu. Praktickou překážkou je cena a nižší účinnost. Použitím vysokých koncentrací lze vytrhávání peří zcela eliminovat. Toho lze dosáhnout např. postřikem peří 2% nebo 4% roztokem chininu. Vzhledem k toxikologickým a bezpečnostním rizikům by mělo být použití

odpuzujících sprejů spíše doplňkem. Primární prevencí je obohacení prostředí a zlepšení životních podmínek zvířat (Harlander-Matauschek & Rodenburg 2011).

Potravní preference byla zkoumána u nosnic. Nosnice konzumovaly vytrhané peří jiných nosnic. Když jim bylo nabídnuto ke konzumaci peří vyprané, zbavené uropygiálních sekretů a pachu, tak o něj nejevily zájem. Na základě čichu dokážou nosnice rozlišit peří se změněnými olfaktorickými vlastnostmi. Vizually byly obě skupiny předloženého peří nerozlišitelné. Nosnice, které před započítím experimentu vyzobávaly peří ostatním, konzumovaly peří častěji než normální slepice (McKeegan & Savory 2001).

Bylo navrženo několik hypotéz, proč slepice upřednostňují peří s uropygiálním sekretem před vypraným. Slepice a kohouti dokážou rozlišit předměty se známým pachem, se kterými se již v minulosti setkali (Jones & Faure 1982; Jones & Carmichael 1999). Atraktivitu peří mohou dále zvyšovat lipidy přítomné v sekretech, které zlepšují jeho chuť (McKeegan & Savory 2001). Naopak peří vyprané představuje pro drůbež něco nového a neznámého, což může vyústit v neofobii, která je běžným projevem chování kura domácího (Murphy 1977).

3.2.6 Další potencionální význam a využití uropygiálních sekretů u komerčně chovaných druhů ptáků

Studium uropygiální žlázy ptáků má význam i pro praxi. Chemické sloučeniny a enzymy mohou mít praktické uplatnění v průmyslu. Karboxylesteráza izolovaná z uropygiální žlázy kura má mnoho cenných vlastností. Tento enzym je termostabilní a zachovává si aktivitu i při 50 °C. Kromě vysokých teplot snáší také přítomnost organických rozpouštědel jako například hexanu nebo butanolu. Potencionální využití karboxylesterázy je syntéza izoamyl acetátu a butyl acetátu. Tyto estery mají charakteristickou ovocnou vůni a jsou široce využívány v potravinářském průmyslu (Fendri et al. 2012).

Zastoupení esterů vosků a složení mastných kyselin svědčí o endokrinním profilu jedince a je ovlivněno koncentracemi hormonů. Analýza sekretů může proto posloužit jako citlivý a nedestruktivní biomarker endogenních disruptorů v životním prostředí (López-Perea & Mateo 2019). Endogenní disruptory jsou látky, které narušují normální funkci endokrinního systému. V poslední době je jim věnována značná pozornost. Mezi širokou škálu jejich negativních účinků patří narušení vývoje plodu, mozku a poruchy plodnosti (Gore et al. 2015). Hormony hrají také velkou roli v etiologii nejčastěji se vyskytujících druhů rakoviny (Key 1995). U vodních organismů mohou narušit poměr pohlaví a vést ke vzniku oboupohlavních jedinců. Celosvětový úbytek ryb a obojživelníků je jedním z následků kontaminace životního prostředí těmito látkami (da Silva et al. 2018; Hayes et al. 2002).

Analýza uropygiálních sekretů může proto posloužit jako užitečný nástroj ke studiu znečištění životního prostředí. Koncentrace lipofilních environmentálních polutantů v sekretech korelují s jejich množstvím v tělesných tkáních, například v tuku, játrech, svalech a krvi. Odebrání je neinvazivní a metodu lze využít i v případě chráněných a ohrožených druhů (López-Perea & Mateo 2019).

Uropygiální sekrety obsahují mastné kyseliny s dlouhým řetězcem. Kyselina nonadekanová přítomná v sekretech má protizánětlivé a protinádorové účinky (Fukuzawa et al. 2008). Byly popsány metody izolace lipidů ze sekretů a jejich potenciální využití k léčbě autoimunitních onemocnění, například revmatoidní artritidy. Vyčištěná lipidová frakce je netoxická a vhodná k léčbě chronických zánětů u lidí i zvířat. Dalším možným využitím je přidávání do zvířecích krmiv. Přídavek do krmiv pro ryby zlepšuje přežití mladých jedinců a podporuje růst (Cook et al. 2018).

Jednou z vážných hrozeb dnešní doby je rostoucí antibiotická rezistence. Stávají antibiotika jsou v řadě případů neúčinná a jsou hledány nové alternativy (Aslam et al. 2018). Jednou z možností je využití antimikrobiálních peptidů (AMP). V současnosti je známo více než 5000 peptidů s antimikrobiálním účinkem. Tyto přírodní a syntetizované peptidy mají široké spektrum účinku. Specifické peptidy působí proti virům, bakteriím, houbám i parazitům (Bahar & Ren 2013). Některé mají imunomodulační účinek a ničí rakovinné buňky. Jejich výzkum intenzivně pokračuje a byly zahájeny první klinické testy (Roudi et al 2017). Řada antimikrobiálních peptidů byla izolována z uropygiální žlázy ptáků. V uropygiální žláze kura byl objeven katelicidin CMAP27, galinacin 3 a antimikrobiální protein S-100 (van Dijk et al. 2005; Yoshimura et al. 2007; Liman et al. 2009). Jejich syntéza z uropygiálních sekretů a následné komerční a farmaceutické využití v budoucnu je tedy velmi nasnadě.

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Modelové organismy

Uropygiální sekrety byly získány z běžně dostupných genotypů kura domácího. K experimentům byli použiti hybridí Ross 308 a ISA Dual. K produkci drůbežího masa se využívají komerční hybridy. Celosvětově nejčastěji využívaní jsou hybridy Ross a Cobb, kteří se liší v některých fyziologických parametrech a rychlosti růstu (Tona et al. 2010). Ross 308 je využíván pro svoji vysokou schopnost růstu a dobrou konverzi krmiva. Výborných výsledků dosahuje při krmení komerčně vyráběnou krmnou směsí (Hascik et al. 2010).

ISA Dual je pomalu rostoucí hybrid kura domácího. Název „Dual“ značí dvojí účel chovu. Slepice jsou chovány k produkci vajec a kohouti na maso. Dvouúčeloví hybridy jsou vhodné pro ekologické chovy a drobnochovy (Lambertz et al. 2018). Kvalita masa pomalu rostoucích hybridů je vyšší nebo srovnatelná (Lichovníková et al. 2009), nevýhodou je dlouhý výkrm a horší konverze krmiva pomalu rostoucích hybridů (Lewis et al. 1997). Chov dvouúčelových hybridů řeší etický problém kohoutků nosných hybridů, kteří jsou po narození rutinně zabíjeni. Kohoutci se pro nedostatečné osvalení nehodí k produkci masa a jsou likvidováni. V EU je každoročně zabito okolo 300 milionů jednodenních kohoutků (Ellendoif et al. 2003). Široká veřejnost to považuje za neetické. V dánském průzkumu dvě třetiny respondentů označili chov dvouúčelových hybridů jako vhodnou alternativu (Leenstra et al. 2011). Dalším řešením je určit pohlaví jedince ještě ve vejci a vyhnout se tak zabíjení již narozených kohoutků (Weissmann et al. 2013). V západní Evropě už nyní sexování *in ovo* probíhá a vejce s označením „Free of Chick Culling“ se dají koupit v supermarketech (Respeggt 2020).

4.2 Experimentální design

4.2.1 Výkrm kuřat

Kuřata byla odchována ve státním podniku Mezinárodní testování drůbeže v Ústrašicích. Zde byly rovněž provedeny porážky a odběry vzorků. Jednodenní kuřata byla rozdělena do boxů podle genotypu a pohlaví. Po vylíhnutí se zastavilo 240 jednodenních kuřat do 2 boxů (1x 120 ♂ a 1x 120 ♀). Kuřata byla ustájena v bezokenní klimatizované hale, na hluboké podestýlce. Byly použity automatické kapátkové napáječky a ručně plněná tubusová krmítka. Jednotlivé experimentální skupiny kuřat jsou uvedeny v Tabulce č. 2

Tabulka č. 2 – Přehled jednotlivých experimentálních skupin kuřat.

Ross 308	♂	<i>ad libitum</i>
	♂	restrikce
	♀	<i>ad libitum</i>
	♀	restrikce
Isa Dual	♂	<i>ad libitum</i>
	♂	restrikce
	♀	<i>ad libitum</i>
	♀	restrikce

U skupin s restrikcí byla restrikce provedena od 14. do 21. dne. Od tohoto období byla kuřatům v restrikci podávána krmná dávka snižená o 30 % ve srovnání s příjmem *ad libitum*. Všechna kuřata byla vážena v týdenních intervalech. Úhyn byl zaznamenáván denně.

Světelný režim:

1. – 7. den	23 hodin světlo + 1 hodina tma
8. – 77 den	18 hodin světlo + 6 hodin tma
78. – 80. den	23 hodin světlo + 1 hodina tma

Hustota obsazení: 14,7 kuřat na 1 m²

Krmivo bylo vyrobeno v ZZN Pelhřimov a.s. dle zadaných receptur.

fáze zkrmování	1. - 14. den	BR1
	15. - 28. den	BR2
	15. – 35. den	BR2
	29.-31.den	BR3
	36.-45. den	BR3
	36.-80. den	BR3

Receptury krmných směsí jsou uvedeny v Tabulce č. 3

Tabulka č. 3 – Receptury krmných směsí.

Suroviny	BR1	BR2	BR3
	%	%	%
Pšenice	46,25	59,54	64,11
Kukuřice	15,00	8,00	5,00
Sójový extr. šrot 48 %	30,65	25,70	22,85
Rybí moučka	1,00	-	-
Monokalciumfosfát	0,53	0,34	0,17
Uhličitan vápenatý	1,49	1,20	1,13
Sůl krmná	0,23	0,20	0,23
Olej sójový	3,05	1,00	-
Tuk živočišný	-	2,42	5,33
Síran sodný	0,11	0,12	0,08
Premixy aminokyselin	0,75	0,76	0,69
Premixy vit.,enz., DL, org. kys.	0,94	0,72	0,41
Obsah živin			
Dusíkaté látky (g/kg)	216,38	195,93	184,83
Tuk (g/kg)	51,00	52,72	70,89
Lysin str. (g/kg)	11,89	10,68	9,48
Methionin str. (g/kg)	5,64	4,94	4,39
Vápník fytáza (g/kg)	9,35	7,74	6,97
Fosfor využ. (g/kg)	4,49	3,90	3,51
Vitamin A (m.j./kg)	15000	9999	10000
Vitamin D3 (m.j./kg)	4998	4998	5000
Metabolizovatelná energie (MJ/kg)	12,55	12,89	13,49

4.2.2 Odběr vzorků

Porážky byly provedeny u kuřat při dosažení živé hmotnosti 2 kg. Kuřata byla omráčena elektrickým proudem a vykřvena. Po vykřvení byla zbavena peří a omyta horkou vodou. Na laboratorních vahách Kern EMB 1000-2 byla kuřata zvážena a pomocí posuvného měřítka byla změřena velikost uropygiální žlázy (délka x šířka x výška). Sekret žlázy byl manuálně vytlačen a odebrán do plastových zkumavek Eppendorf Safe-Lock Tubes o objemu 2,0 ml. Veškeré odběry a manipulace probíhaly v gumových rukavicích.

4.2.3 Analýza mastných kyselin

Stanovení mastných kyselin přítomných v uropygiálních sekretech bylo provedeno pomocí metody alkalické transmethylace. Do plastových mikrozkušavek o objemu 1,5 ml (Eppendorf) bylo odváženo 1 až 2 mg uropygiálního sekretu. Následně byl přidán 1 ml petroléteru (CAS 64742-49-0 Penta, ČR). Vzorek byl promíchán a vložen do ultrazvukové lázně. Po rozpuštění byl obsah mikrozkušavky pipetou přenesen do odměrných baněk o objemu 10 ml a přidán 1 ml 0,4 mol/l NaH v methanolu (CAS 7646-69-7 Sigma-Aldrich, ČR). Po promíchání byl vzorek ponechán 20 minut při laboratorní teplotě. Následně se vzorek zalil 10 ml destilované vody a protřepal. Po oddělení fází byla horní organická vrstva odsáta pomocí Pasteurových pipet a přenesena do vialek o objemu 2 ml (Agilent Technologies, USA) s vloženými inserty a zavíčkována. Vialky byly následně skladovány v lednici při 4 °C až do okamžiku analýzy. Měření proběhlo v nejbližších dnech (rozmezí 1–7 dnů).

Separace MK byla provedena na polární koloně Rt-2560 s parametry 100 metrů délky, 0,25 mm vnitřního průměru, 0,2 µm tloušky stacionární fáze. Výrobce kolony byla společnost Restek, Lisses, Francie. Jako mobilní fáze bylo použité helium (o čistotě 5.0) s průtokem 1,2 ml/min. Nástřik vzorku do přístroje činil 1 µl v režimu split s konstantním splitovacím poměrem 1:50. Teplota nástřiku byla 225 °C. Teplotní program přístroje byl následující: počáteční teplota pece byla 70 °C (trvání 2 minuty), poté se teplota zvýšila na 225 °C rychlostí 5 °C/minutu. Po uplynutí 9 minut při 225 °C se teplota opět zvýšila na konečných 240 °C rychlostí 10 °C/min. Při této teplotě byl přístroj udržován po dobu 6,5 minut. Celkový čas analýzy činil 45,5 minut. Teplota detektoru byla 260 °C.

Identifikace MK byla provedena pomocí plynového chromatografu s hmotnostní detekcí (GC/MS Agilent 7890A + Agilent 5975C, Santa Clara, USA) za stejných chromatografických podmínek jako relativní kvantifikace pomocí GC/FID. Parametry hmotnostního detektoru byly následující: teplota iontového zdroje byla nastavena na 230 °C, teplota kvadrupólu 150 °C. Hmotnostní spektra byla získána v TIC režimu v rozsahu hmot rozsah: 40–400 m/z). Identifikace byla provedena na základě interpretace a porovnání hmotnostních spekter dostupnými standardy (FAME mix) a údaji ze spektrální NIST knihovny (National Institute of Standards and Technology) verze 2.0f.

4.2.4 Analýza těkavých látek

Těkavé organické látky byly analyzovány multidimenzionálním plynovým chromatografem s hmotnostní detekcí (MDGC/MS) QP2010 Ultra Shimadzu, Japonsko. Těkavé podíly vzorků byly odebrány pomocí mikroextrakce na tuhou fázi „solid phase microextraction“ (SPME).

Do čistých skleněných „headspace“ vialek bylo naváženo přesné množství uropygiálního sekretu. Navážka byla $0,0275 \pm 0,0025$ g. Výjimečně byla navážka nižší (0,010 – 0,025 g), v případě, že nebylo k dispozici dostatečné množství sekretu. Do každé vialky bylo přidáno 10 µl vodného roztoku 2,6-dichloroanizolu (CAS 1984-65-2 Sigma-Aldrich, ČR) jako

vnitřní standard (IS). Následně byly vialky zahřívány ve vodní lázni po dobu 3,5 hodin při teplotě 45 °C (doba a teplota zahřívání byly optimalizovány). Po uplynutí této doby bylo do vialky vloženo SPME vlákno 50 µm DVB/CAR/PDMS (od společnosti Supelco, Sigma-Aldrich, Merck) a ponecháno 40 minut. Následně bylo vyjmuto a na 7 minut vloženo do vyhřátého nástřiku plynového chromatografu. Poté bylo vlákno přemístěné do (v pořadí) další vialky a celý postup se opakoval.

Separace látek byla provedena na dvou kolonách spojeným tzv. Deans Switch se 100 % účinností převádění z jedné kolony do druhé. První kolona byla SLB-5MS (délka 30 m, vnitřní průměr 0,32 mm, tloušťka stacionární fáze 1,0 µm, Supelco, USA) a druhá SPB-50 s obdobnými parametry 30 m (délka), 0,32 mm (vnitřní průměr), 0,25 µm (tloušťka stacionární fáze) od společnosti Sigma-Aldrich, Merck, Německo. Helium (o čistotě 5,0) bylo použito jako nosný plyn s tlakem 80 kPa (1,37 ml/min) na hlavu kolony. Teplotní program byl následující: počáteční teplota byla 45 °C po dobu 5 minut. Poté byla teplota zvýšena rychlostí 10 °C/min na 250 °C. Tato konečná teplota se udržovala po dobu 17,5 minut. Analýza trvala celkem 43 minut. V rámci nástřiku se pracovalo v tzv. módu pulzního splitless se splitless periodou 2 min. Teplota nástřiku byla po celou dobu analýzy 250 °C, teplota iontového zdroje byla 200 °C a teplota detektoru 220 °C. Hmotnostní spektra byla snímání v rozsahu 30 – 400 (m/z). Kvantitativní analýza byla provedena pro sledované látky s poměrem signálu k šumu („signal-to-noise“ S/N) větší než 2. Hmotnostní spektra separovaných látek byla interpretována a porovnána s dostupnými údaji ze spektrální knihovny NIST11 (National Institute of Standards and Technology).

4.2.5 Antimikrobiální aktivita proti *Micrococcus luteus*

Pro měření antimikrobiální aktivity byly náhodně vybrány čtyři vzorky reprezentující různé testované kombinace genotypů, pohlaví a způsobu krmení. Nejprve byly testovány čisté uropygiální sekrety, které nebyly rozpuštěny v žádném pufru. Do Petriho misek s agarem a živným médiem byl naočkován *Micrococcus luteus*. Poté byly do agarů vysekány jamky. Do jednotlivých jamek byly nanášeny 4 mg vzorku uropygiálního sekretu. Petriho misky byly inkubovány po dobu 48 hodin při teplotě 29 °C. V případě antimikrobiální aktivity vzorku dojde k vytvoření inhibičních zón, v opačném případě vytvoří mikroorganismus souvislé kolonie po celé ploše Petriho misky. Kromě samostatného sekretu byl také testován uropygiální sekret rozpuštěný v pufrůvacím roztoku. Vzorek byl důkladně vortexován až do úplného rozpuštění. Pracovní postup je schematicky znázorněn v Tabulce č. 4. Jako rozpouštědlo byl zvolen 0,1% DMSO ve fosfátovém pufru, který nevykazoval žádnou inhibici růstu bakteriálních kolonií.

Tabulka č. 4 – Postup testování antimikrobiální aktivity proti *Micrococcus luteus*:

1. krok	testování samotného uropygiálního sekretu	do jamky nanесeny 4 mg vzorku		
2. krok	testování rozpouštědel	5 µl/jamku		
	0,05% DMSO v Tween 20	0,05% DMSO ve fosfátovém pufru	0,1% DMSO ve fosfátovém pufru	1% DMSO ve fosfátovém pufru
3. krok	testování sekretu ve vybraném rozpouštědle	4 mg sekretu + 20 µl 0,1% DMSO ve fosfátovém pufru		
4. krok	testování sekretu ve vybraném rozpouštědle	5-5,5 mg sekretu + 70 µl 0,1% DMSO ve fosfátovém pufru 0,1% DMSO ve fosfátovém pufru jako blank		

4.2.6 Antimikrobiální aktivita proti *Escherichia coli*

Pro měření antimikrobiální aktivity byly náhodně vybrány čtyři vzorky reprezentující různé testované kombinace genotypů, pohlaví a způsobu krmení. K měření antimikrobiální aktivity proti *Escherichia coli* byl použit bioluminiscenční kmen bakterie. Živé bakterie produkují světlo, snížení počtu bakterií se projeví úbytkem bioluminiscence. Měření probíhalo kontinuálně po dobu jedné až dvou hodin při 37 °C na luminometru Hidex Chameleon. Do jednotlivých jamek bylo nanесeno 5 až 5,5 mg vzorku v 70 µl 0,1% dimethylsulfoxidu (DMSO) ve fosfátovém pufru. Jako slepý vzorek byl použit samotný 0,1% DMSO ve fosfátovém pufru. Inhibice růstu bakterií byla vypočítána po 30 minutách. Pracovní postup je schematicky znázorněn v Tabulce č. 5.

Tabulka č. 5 – Postup měření antimikrobiální aktivity proti *Escherichia coli*:

1. krok	testování rozpouštědel	20 µl/jamku + bakterie + fosfátový pufr		
	0,05% DMSO v Tween 20	0,05% DMSO ve fosfátovém pufru	0,1% DMSO ve fosfátovém pufru	1% DMSO ve fosfátovém pufru
2. krok	5-5,5mg vzorku + 70 µl 0,1% DMSO ve fosfátovém pufru	nanесeno 40 (jamky 1-6) nebo 20 µl/jamku (jamky 7-12) po důkladném zvortexování + bakterie + fosfátový pufr blank 0,1% DMSO ve fosfátovém pufru		

4.2.7 Statistické zpracování dat

Pro analýzu vlivu genotypu, pohlaví, restrikce krmiva, objemu uropygiální žlázy a celkové hmotnosti jedince na profil mastných kyselin v uropygiálních sekretech a velikost uropygiální žlázy bylo použito zobecněných lineárních modelů (GLMs = „Generalized Linear Models“).

Nejprve byl v samostatném GLM testován vliv vybraných proměnných na velikost (objem) uropygiální žlázy. Objem uropygiální žlázy byl v tomto modelu vysvětlována proměnná, zatímco genotyp, pohlaví, restrikce krmiva (restringovaná kuřata vs. kuřata krmena *ad libitum*) a celková váha jedince byly proměnné vysvětlující.

Testování vlivu vybraných proměnných na relativní podíl nasycených, mononenasycených a polynenasycených MK bylo provedeno ve třech samostatných GLMs, kdy relativní podíly jednotlivých skupin MK byly zadány jako vysvětlované proměnné, zatímco genotyp, pohlaví, restrikce krmiva (restringovaná kuřata vs. kuřata krmena *ad libitum*), objem uropygiální žlázy a celková hmotnost jedince jako proměnné vysvětlující. Relativní podíly mononenasycených MK byly \log_{10} transformovány pro dosažení normality dat a využití parametrických modelů.

Zároveň byl ve dvou samostatných GLMs testován vliv genotypu, pohlaví, restrikce krmiva, objemu uropygiální žlázy a celkové hmotnosti jedince na relativní podíl dvou nejdominantnějších MK (kyseliny palmitové a stearové; Příloha č. 2 + Graf č. 5 a 6) v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat ISA Dual a Ross 308.

V případě detekovaných těkavých organických látek (VOCs) bylo postupováno tak, že bylo využito tří samostatných MANOVA („Multiple Analysis of Variance“) modelů, které testovali vliv genotypu, pohlaví a restrikce krmiva na relativní podíly deseti nejdominantnějších těkavých organických látek detekovaných ve vzorcích (viz Příloha č. 3). V případě průkazného efektu těchto hlavních proměnných byla použita ANOVA pro detekování konkrétních těkavých organických látek vykazujících variabilitu pro daný testovaný faktor.

Ve všech GLMs jsme testovali také dvojné interakce mezi všemi vysvětlujícími proměnnými a vybrané trojné interakce (viz Výsledky a jednotlivé tabulky dílčích GLMs).

Výstupy jednotlivých modelů a hodnoty signifikance na hladině pravděpodobnosti ($\alpha = 0,05$) pro všechny testované vysvětlující proměnné a jejich dvojné a vybrané trojné interakce jsou prezentovány formou souhrnných ANOVA („Analysis of variance“) tabulek. Hodnoty signifikance v tabulkách odpovídají hodnotám získaným z minimálních adekvátních modelů metodou postupné „backward elimination“ nesignifikantních proměnných.

Veškeré analýzy byly prováděny s využitím statistického programu R a jeho platformy RStudio (version 1.1.463; <http://www.rstudio.com/>) a softwarových balíčků *lme4*, *ggplot2*, *ggpubr*, *magrittr*, *dplyr*, *tidyverse*.

4.3 Chemikálie

Petroléter 40-65 ° C, p.a., Penta, ČR
hydrid sodný NaH o čistotě 95 % Sigma-Aldrich, ČR
methanol o čistotě 99,9 %, VWR International, ČR
fosfátový pufr
dimethylsulfoxid
destilovaná voda
2,6-dichloroanizol o čistotě 97 % Sigma-Aldrich, ČR

4.4 Přístrojové vybavení

Plynový chromatograf GC/MS Agilent 7890A + Agilent 5975C, Santa Clara, USA
plynový chromatograf GC/FID Agilent 7890A, Santa Clara, USA
mutidimenzionální plynový chromatograf s hmotnostní detekcí GCMS-QP2010 Ultra Shimadzu, Japonsko
analytické váhy Explorer Pro Ohaus, USA
laboratorní váhy Kern EMB 1000-2, Německo
ultrazvuková lázeň Tesla, ČR
digestoř odtahová, Merci, ČR
lednice Liebherr, Německo
mraznička Liebherr, Německo
posuvné měřítko digitální
automatická pipeta Eppendorf, Německo
luminometr Hidex Chameleon, Hidex Finsko
mikrobiologický termostat
magnetická míchačka s ohřevem Heidolph Hei-Standard Heidolph, Německo

4.5 Materiál

Skalpel nerezový
špičky plastové Eppendorf, Německo
nitrilové rukavice VWR, USA
vialky o objemu 2 ml skleněné šroubovatelné, Agilent Technologies, USA
víčka k vialkám 9mm, šroubovací, plastová, Agilent Technologies, USA
inserty 0,25 ml, 5x31 mm Macherey Nagel, Německo
skleněné Pasteurovy pipety Hirschmann, Německo
odměrné baňky o objemu 10 ml Simax, ČR
plastové mikrozkušavky o objemu 1,5 ml Eppendorf, Německo
plastové mikrozkušavky Safe-Lock Tubes o objemu 2 ml, Eppendorf, Německo
skleněné kádinky Simax, ČR

stříčka plastová o objemu 250 ml Kartell, Itálie
pipetovací nástavec Glasfim Giessen, Německo
Petriho misky s agarem a živným médiem
vlákno pro mikroextrakci na tuhou fázi DVB/CAR/PDMS
(Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane), Supelco, USA

5 VÝSLEDKY

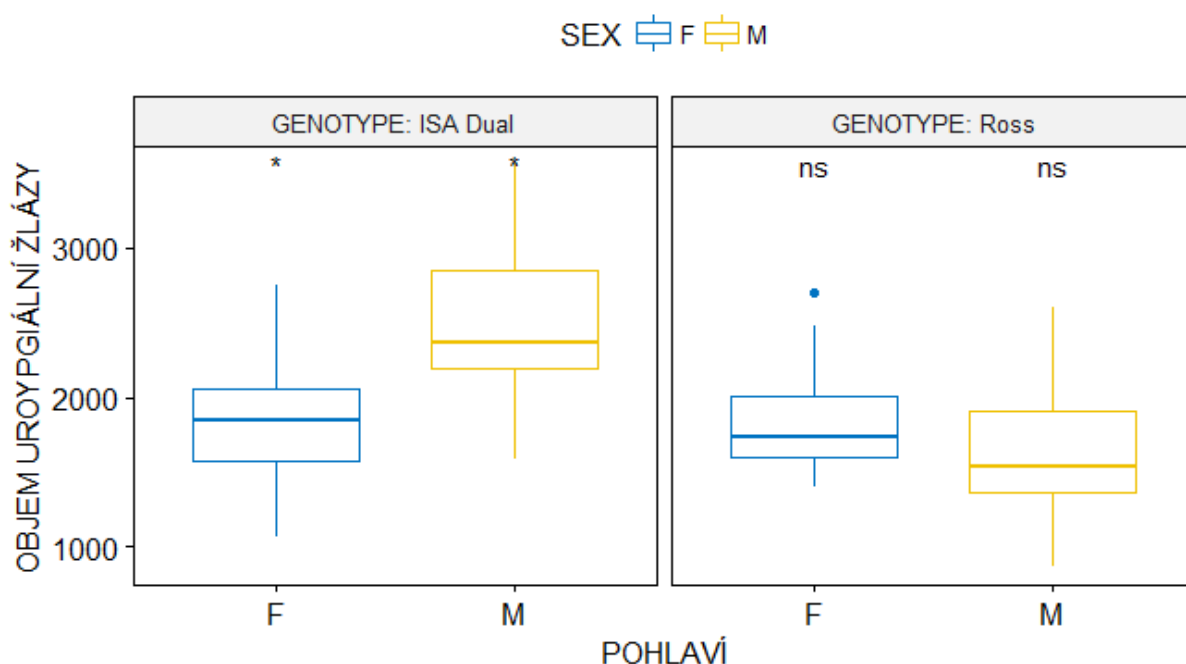
5.1 Efekt genotypu, restrikce krmiva, pohlaví a celkové hmotnosti jedince na velikost uropygiální žlázy

Ze všech testovaných proměnných byl prokázán signifikantní vliv genotypu, pohlaví a jejich vzájemná interakce na velikost (objem) uropygiální žlázy ($p = \ll 0,0001$, Tabulka č. 6). Zatímco u genotypu ISA Dual vykazovali kohoutci průkazně větší objem uropygiální žlázy oproti slepičkám, u genotypu Ross 308 nebyl tento rozdíl mezi pohlavími patrný (Graf č. 2). Korelace mezi celkovou hmotností jedince a velikost uropygiální žlázy nebyla prokázána (Tabulka č. 6; Spearmanův korelační koeficient $\rho = -0,0109$, $p = 0,9242$). Restrikce krmiva neměla samostatně ani v interakci s genotypem či pohlavím průkazný vliv na velikost uropygiální žlázy (Tabulka č. 6).

Tabulka č. 6 – Výsledky zobecněného lineárního modelu (GLM) testujícího vliv genotypu, restrikce krmiva, pohlaví a celkové hmotnosti a jejich interakce na velikost (objem) uropygiální žlázy. Signifikantní proměnné a jejich hodnoty významnosti na hladině signifikance ($\alpha = 0,05$) jsou vyznačeny tučně.

	Df	Mean Sq	F value	p-value
genotyp	1	3671908	23,2153	$\ll 0,0001$
restrikce krmiva	1	481724	3,0457	0,08522
pohlaví	1	1056064	6,6769	0,01180
celková hmotnost jedince	1	86585	0,5474	0,46178
genotyp:pohlaví	1	6299871	39,8304	$\ll 0,0001$
genotyp: restrikce krmiva	1	1114	0,0069	0,93426
restrikce krmiva:pohlaví	1	29790	0,1811	0,67174
pohlaví:celková hmotnost jedince	1	7873	0,0484	0,82646

Graf č. 2 – Vliv genotypu a pohlaví na velikost (objem) uropygiální žlázy (F = slepičky, M = kohoutci; ns = nesignifikantní rozdíl mezi skupinami, * = průkazný rozdíl mezi skupinami dle Tukey HSD testu; hladina významnosti $\alpha = 0,05$).

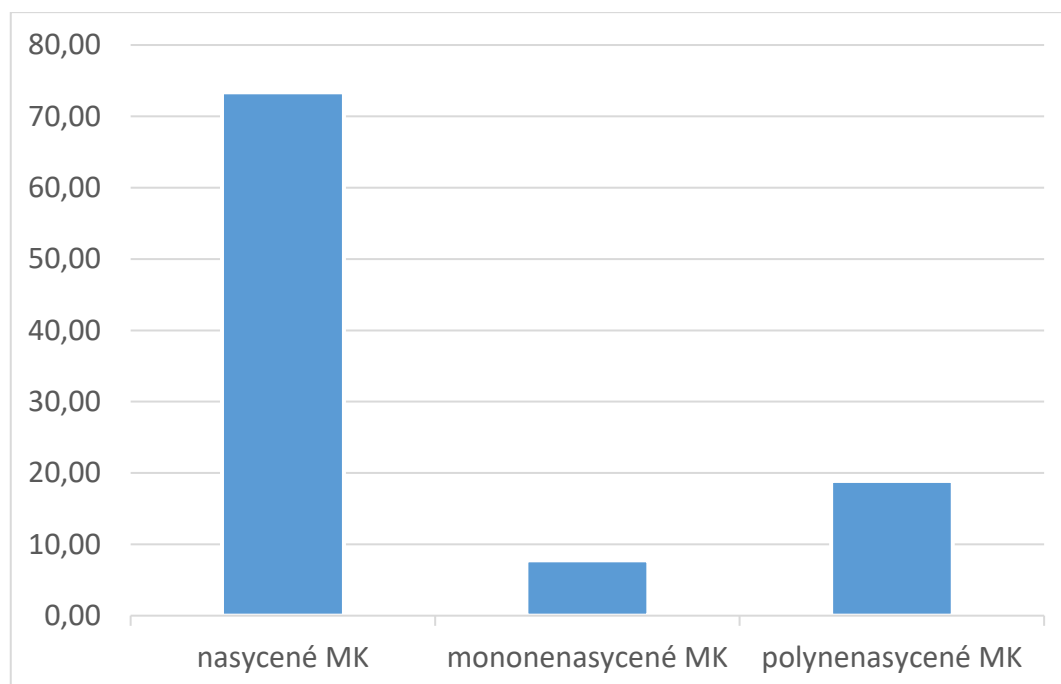


5.2 Mastné kyseliny detekované v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat

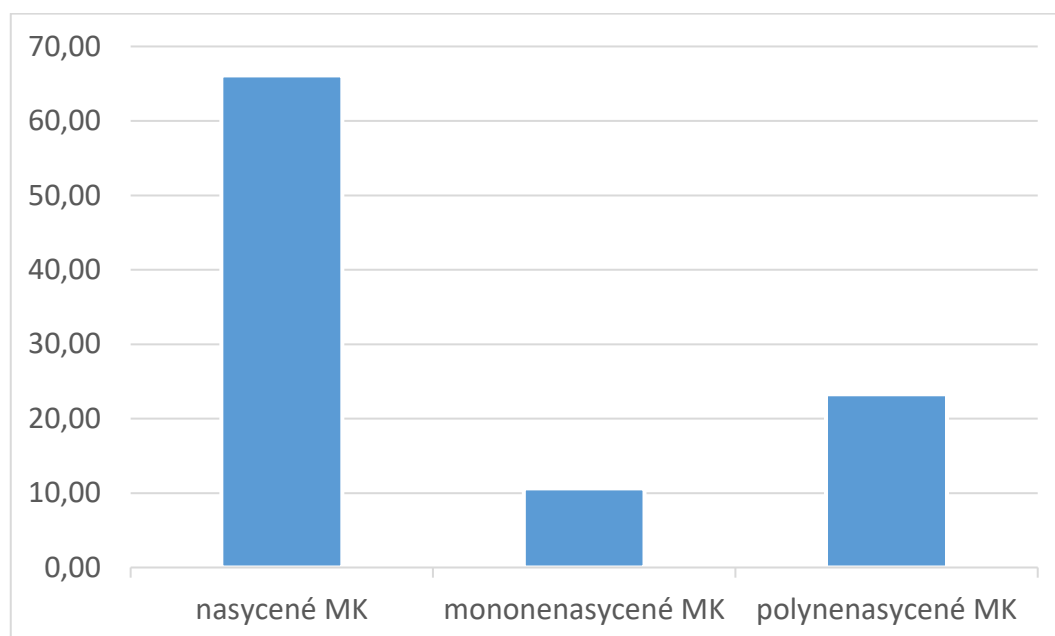
Celkem jsme v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat genotypu Ross 308 a ISA Dual detekovali 34 mastných kyselin (MK), z nichž 17 patřilo mezi nasycené MK, 7 mezi mononenasyčené MK a 10 mezi polynenasycené MK (kompletní přehled detekovaných MK a jejich relativní podíly viz Příloha č. 2). Kromě MK detekovaných v předchozích studiích jsme rovněž detekovali 14 MK, které nebyly v předchozích studiích dosud zaznamenány (Příloha č. 2). Dominantní podíl z celkového profilu MK nalezených v uropygiálních sekretech tvořily nasycené MK (Ross 73,37 %, ISA Dual 66,13 %; Grafy č. 3 a 4), následované polynenasycenými MK (Ross 18,86 %, ISA Dual 23,25 %) a mononenasyčenými MK, jejichž podíl byl v celkovém profilu MK nejmenší (Ross 7,76 %, ISA Dual 10,62 %).

Z jednotlivých MK dominovala v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat kyselina stearová, palmitová, linoelaidová, olejová, linolová a myristová. Nejhojněji zastoupená byla kyselina stearová a palmitová. Pořadí ostatních MK se lišilo v závislosti na genotypu (Graf č. 5 a 6).

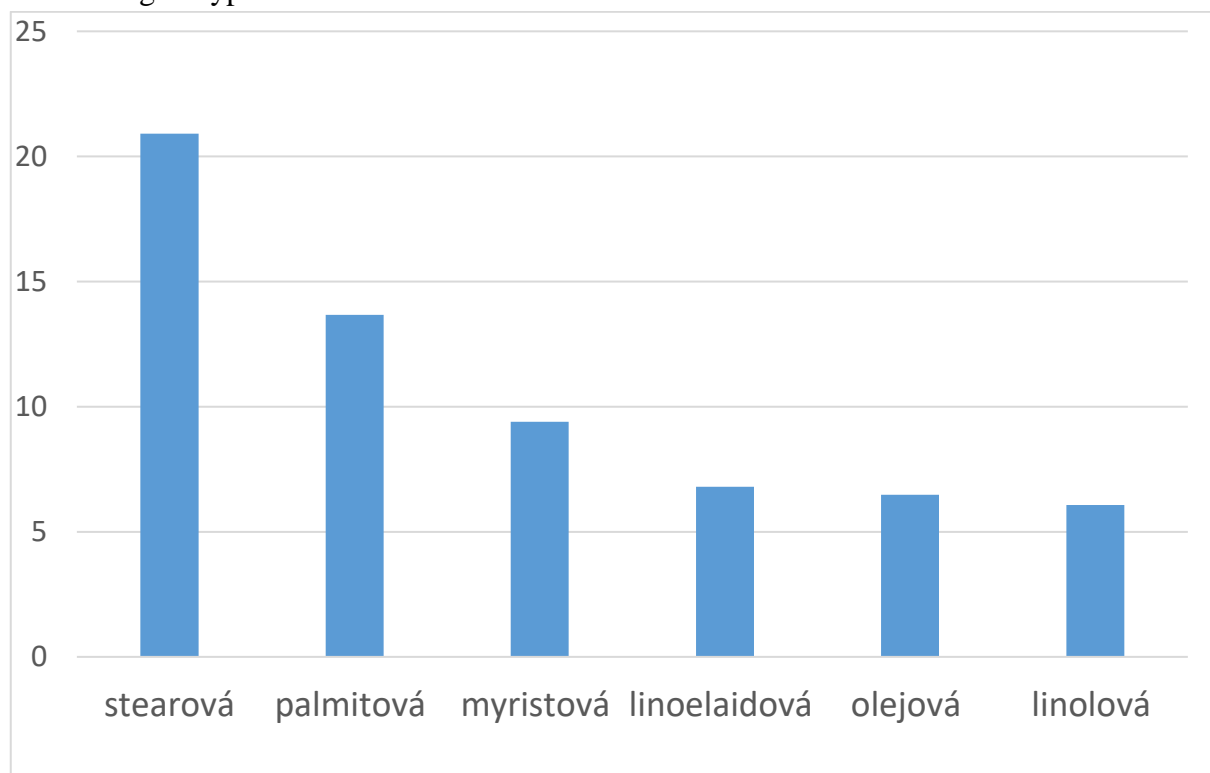
Graf č. 3 – Procentuální zastoupení jednotlivých skupin MK detekovaných v uropygiálních sekretech genotypu Ross 308.



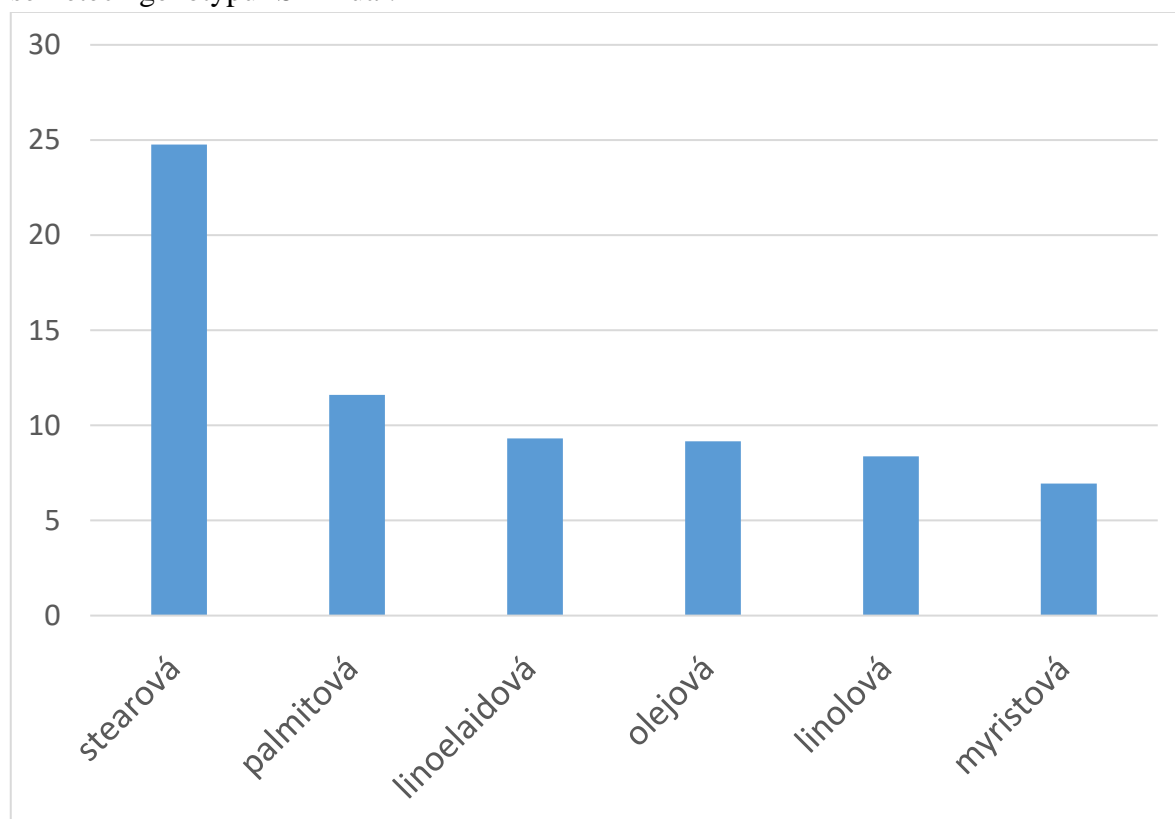
Graf č. 4 – Procentuální zastoupení jednotlivých skupin MK detekovaných v uropygiálních sekretech genotypu ISA Dual.



Graf č. 5 – Relativní podíl (%) nejvíce dominantních MK detekovaných v uropygiálních sekretech genotypu Ross 308.



Graf č. 6 – Relativní podíl (%) nejvíce dominantních MK detekovaných v uropygiálních sekretech genotypu ISA Dual.



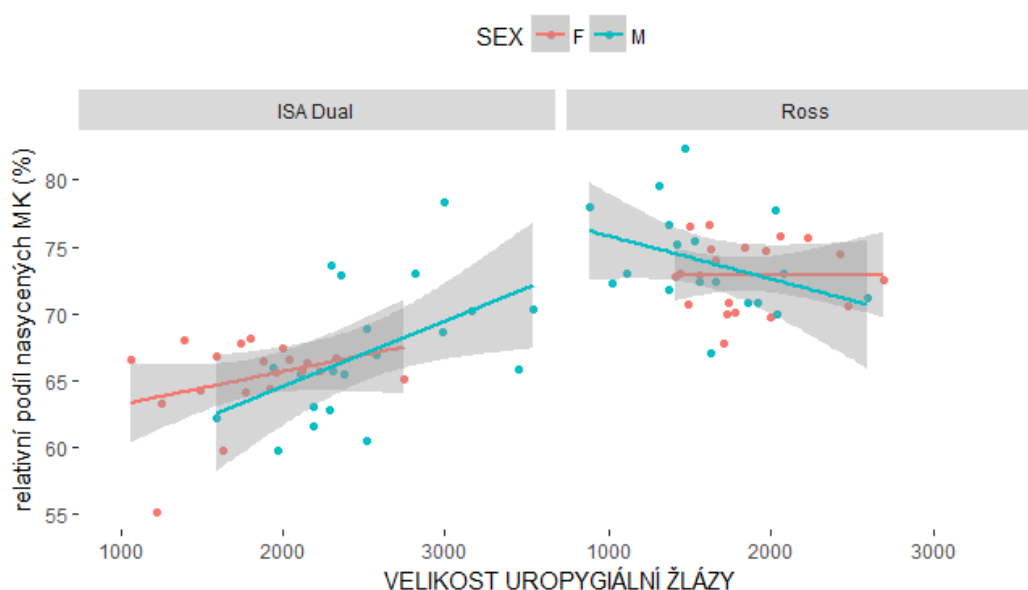
5.3 Efekt testovaných proměnných na relativní podíl nasycených mastných kyselin v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat

Z testovaných faktorů ovlivňujících relativní podíl nasycených MK v uropygiálních sekretech kuřat byl prokázán signifikantní efekt velikosti uropygiální žlázy v interakci s genotypem a pohlavím brojlerových kuřat ($p = 0,02089$, Tabulka č. 7). Bylo prokázáno, že relativní podíl nasycených MK rostl s velikostí uropygiální žlázy u kohoutků i slepiček, avšak pouze u genotypu ISA Dual, kdy silnější korelace byla u kohoutků v porovnání se slepičkami (Graf č. 7). U genotypu Ross 308 byl tento vztah opačný a relativní podíl nasycených MK v uropygiálních sekretech klesal spolu s velikostí žlázy, avšak pouze u kohoutků (Graf č. 7). U slepiček genotypu Ross 308 neměla velikost uropygiální žlázy žádný efekt na relativní podíl nasycených MK v uropygiálních sekretech (Graf č. 7).

Tabulka č. 7 – Výsledky zobecněného lineárního modelu (GLM) testujícího vliv genotypu, restrikce krmiva, pohlaví a celkové hmotnosti a jejich interakce na relativní zastoupení nasycených MK v sekretech uropygiální žlázy brojlerových kuřat. Signifikantní proměnné a jejich hodnoty významnosti na hladině signifikance ($\alpha = 0,05$) jsou vyznačeny tučně.

	Df	Mean Sq	F value	Pr(>F)
genotyp	1	1022,12	84,0042	<<0,0001
restrikce krmiva	1	11,68	0,9666	0,32896
pohlaví	1	38,60	3,1284	0,08124
objem uropygiální žlázy	1	56,48	4,6417	0,03455*
celková hmotnost jedince	1	3,40	0,2856	0,594773
genotyp:pohlaví	1	1,27	0,1055	0,74630
genotyp: restrikce krmiva	1	21,27	1,7680	0,18815
restrikce krmiva:pohlaví	1	6,27	0,5136	0,47611
genotyp:objem uropygiální žlázy:pohlaví	3	42,00	0,5136	0,02089*

Graf č. 7 – Vliv genotypu, pohlaví a velikosti uropygiální žlázy na relativní podíl nasycených MK (červeně = F (slepičky), modře = M (kohoutci)).



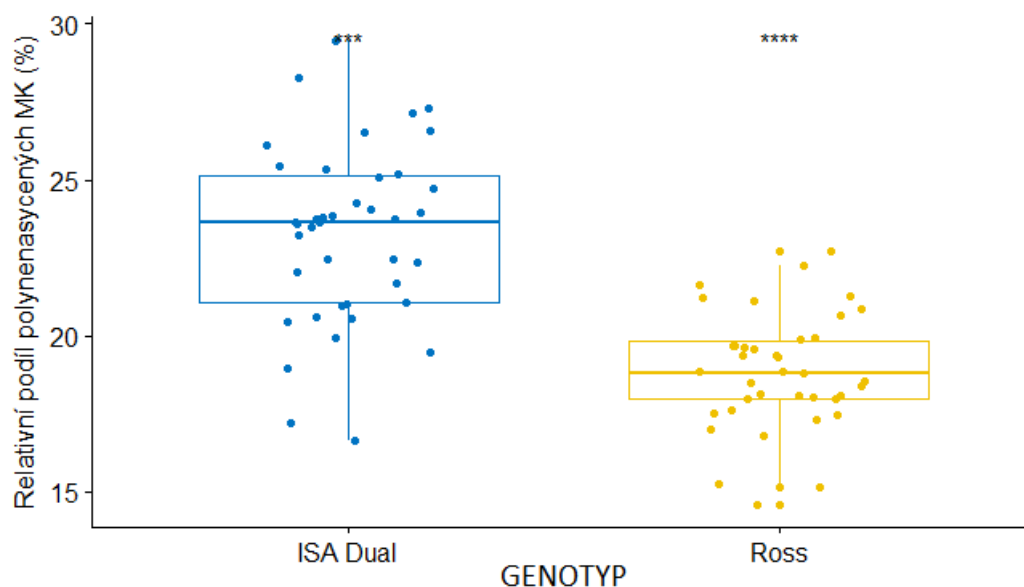
5.4 Efekt testovaných proměnných na relativní podíl polynenasycených mastných kyselin v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat

Ze všech testovaných faktorů se podařil prokázat pouze efekt genotypu na relativní podíl polynenasycených mastných kyselin v uropygiálních sekretech kuřat (Tabulka č. 8). Jedinci genotypu ISA Dual vykazovali průkazně vyšší relativní podíl polynenasycených MK v uropygiálních sekretech v porovnání s jedinci genotypu Ross 308 (Graf č. 8). Vliv restrikce krmiva, pohlaví, velikosti uropygiální žlázy a celkové hmotnosti jedince na relativní podíl polynenasycených MK v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat nebyl prokázán (Tabulka č. 8).

Tabulka č. 8 – Výsledky zobecněného lineárního modelu (GLM) testujícího vliv genotypu, restrikce krmiva, pohlaví a celkové hmotnosti a jejich interakce na relativní zastoupení polynenasycených MK v sekretech uropygiální žlázy brojlerových kuřat. Signifikantní proměnné a jejich hodnoty významnosti na hladině signifikance ($\alpha = 0,05$) jsou vyznačeny tučně.

	Df	Mean Sq	F value	Pr(>F)
genotyp	1	374,83	64,331	<<0,0001
restrikce krmiva	1	6,10	1,0390	0,3118
pohlaví	1	7,48	1,2743	0,2630
objem uropygiální žlázy	1	2,39	0,4072	0,5256
celková hmotnost jedince	1	2,14	0,3656	0,5475
genotyp:pohlaví	1	0,76	0,1292	0,7204
genotyp: restrikce krmiva	1	4,27	0,7287	0,3964
restrikce krmiva:pohlaví	1	1,37	0,2334	0,6306
genotyp:pohlaví:objem uropygiální žlázy	3	10,38	1,7702	0,1614

Graf č. 8 – Vliv genotypu na relativní podíl polynenasycených MK.



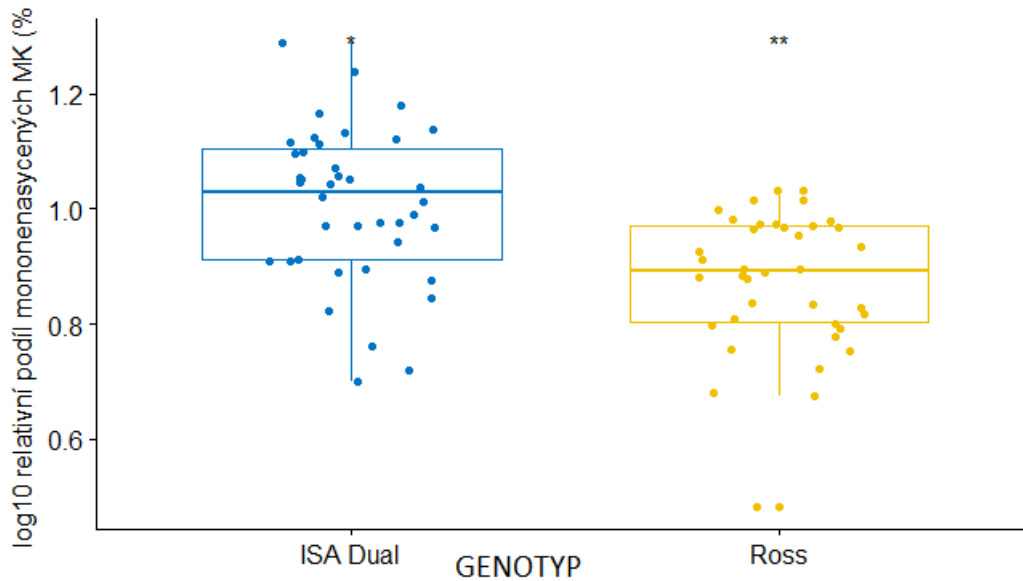
5.5 Efekt testovaných proměnných na relativní podíl mononenasycených mastných kyselin v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat

Stejně jako v případě polynenasycených MK byl prokázán pouze efekt genotypu na relativní podíl mononenasycených MK v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat (Tabulka č. 9). Kuřata genotypu ISA Dual vykazovala signifikantně vyšší relativní podíl MK v uropygiálních sekretech v porovnání s jedinci genotypu Ross 308 (Graf č. 9). Vliv restriktce krmiva, pohlaví, velikosti uropygiální žlázy a celkové hmotnosti jedince na relativní podíl polynenasycených MK v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat nebyl prokázán (Tabulka č. 9).

Tabulka č. 9 – Výsledky zobecněného lineárního modelu (GLM) testujícího vliv genotypu, restriktce krmiva, pohlaví a celkové hmotnosti a jejich interakce na relativní zastoupení mononenasycených MK v sekretech uropygiální žlázy brojlerových kuřat. Signifikantní proměnné a jejich hodnoty významnosti na hladině signifikance ($\alpha = 0,05$) jsou vyznačeny tučně.

	Df	Mean Sq	F value	Pr(>F)
genotyp	1	0,33721	21,7922	<0,001
restrikce krmiva	1	0,00030	0,0199	0,88823
pohlaví	1	0,03869	2,5787	0,11308
objem uropygiální žlázy	1	0,01378	0,9182	0,34144
celková hmotnost jedince	1	0,02344	1,5621	0,21577
genotyp:pohlaví	1	0,00797	0,5312	0,46870
genotyp:restrikce krmiva	1	0,01947	1,2978	0,25874
restrikce krmiva:pohlaví	1	0,00660	0,4396	0,50963
genotyp:pohlaví:objem uropygiální žlázy	3	0,03295	2,1960	0,09676

Graf č. 9 – Vliv genotypu na relativní zastoupení mononenasycených MK.



5.6 Efekt genotypu, restrikce krmiva, pohlaví a velikosti uropygiální žlázy na relativní podíl dvou dominantních mastných kyselin (k. stearová a k. palmitová) v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat

Z faktorů ovlivňujících relativní podíl dvou nejdominantněji zastoupených MK v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat (k. stearovou a k. palmitovou) měl nejsilnější vliv efekt genotypu (Tabulka č. 10 + Tabulka č. 11 + Graf č. 10 a 11). U genotypu Ross byl prokázán vyšší relativní podíl k. palmitové ale naopak nižší relativní podíl k. stearové v porovnání s genotypem ISA Dual (Grafy č. 10 a 11). U k. stearové byl prokázán také efekt celkové hmotnosti jedince (Tabulka č. 10), kdy se se zvyšující hmotností jedince snižoval relativní podíl k. stearové (Graf č. 12). Pro kyselinu palmitovou byl v modelu průkazný ještě efekt velikosti uropygiální žlázy (Graf č. 13) a také efekt restrikce krmiva (Tabulka č. 11). Nicméně Tukey HSD post-hoc test neprokázal signifikantní rozdíl mezi restringovanými a *ad libitum* krmnými kuřaty ($p = 0,068$).

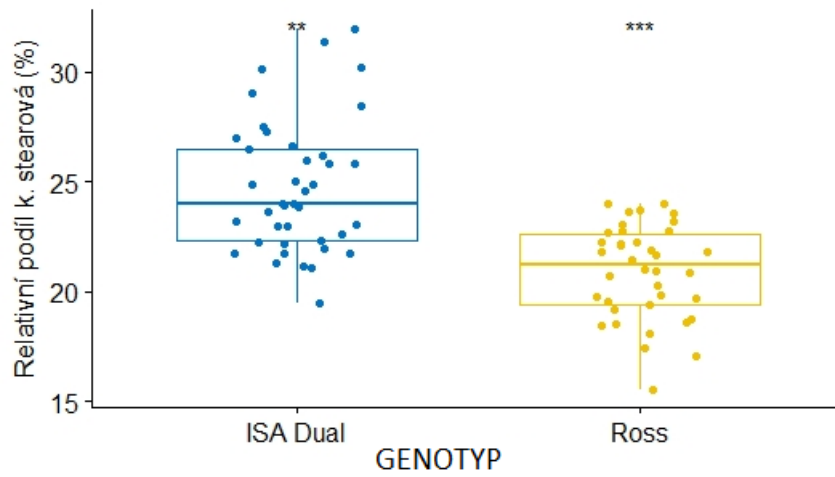
Tabulka č. 10 – Výsledky zobecněného lineárního modelu (GLM) testujícího vliv genotypu, restrikce krmiva, pohlaví a celkové hmotnosti a jejich interakce na relativní zastoupení kyseliny stearové v sekretech uropygiální žlázy brojlerových kuřat. Signifikantní proměnné a jejich hodnoty významnosti na hladině signifikance ($\alpha = 0,05$) jsou vyznačeny tučně.

	Df	Mean Sq	F value	Pr(>F)
genotyp	1	289,556	41,2951	<<0,0001***
restrikce krmiva	1	1,413	0,2015	0,65488
pohlaví	1	5,339	0,7614	0,38589
objem uropygiální žlázy	1	0,028	0,0040	0,94947
celková hmotnost jedince	1	24,775	3,6880	0,05866*
genotyp:pohlaví	1	0,475	0,0678	0,79532
genotyp:restrikce krmiva	1	0,121	0,0173	0,89576

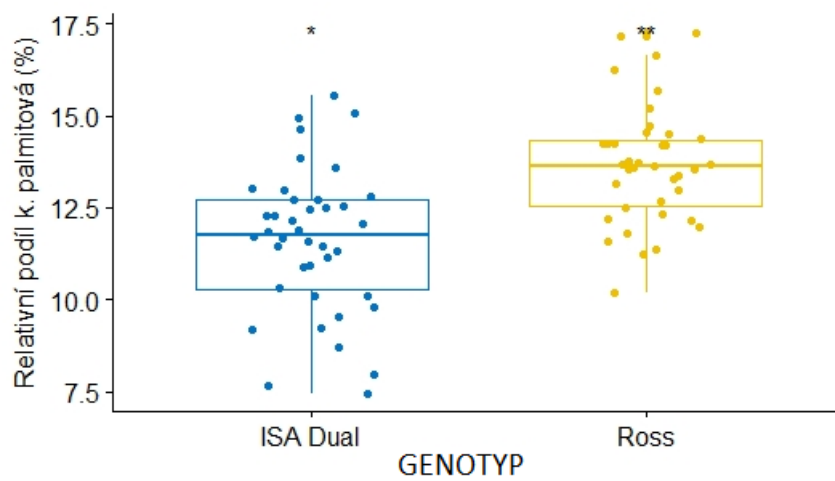
Tabulka č. 11 – Výsledky zobecněného lineárního modelu (GLM) testujícího vliv genotypu, restrikce krmiva, pohlaví a celkové hmotnosti a jejich interakce na relativní zastoupení kyseliny palmitové v sekretech uropygiální žlázy brojlerových kuřat. Signifikantní proměnné a jejich hodnoty významnosti na hladině signifikance ($\alpha = 0,05$) jsou vyznačeny tučně.

	Df	Mean Sq	F value	Pr(>F)
genotyp	1	82,811	28,7245	<<0,0001***
restrikce krmiva	1	12,387	4,2391	0,04302*
pohlaví	1	2,738	0,9496	0,33317
objem uropygiální žlázy	1	15,836	5,4193	0,02265*
celková hmotnost jedince	1	2,662	0,9099	0,34328
genotyp:pohlaví	1	1,480	0,5133	0,47610
genotyp:restrikce krmiva	1	0,280	0,0970	0,75640

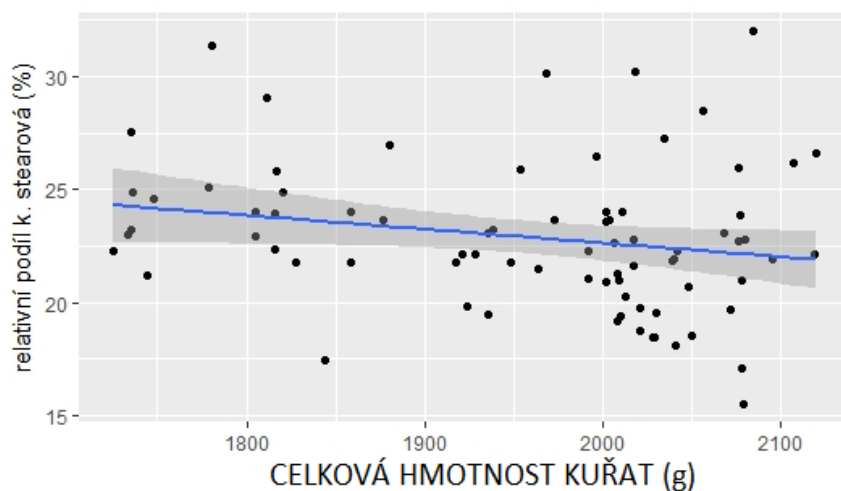
Graf č. 10 – Vliv genotypu na relativní zastoupení kyseliny stearové v uropygiálním sekretu.



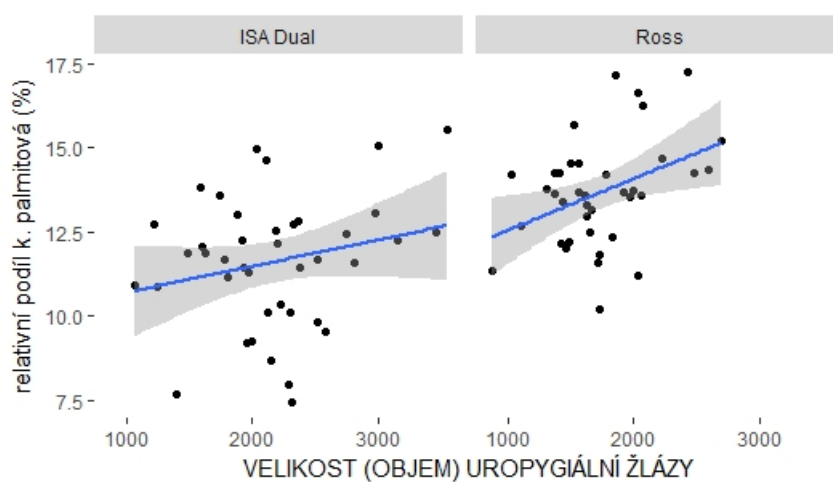
Graf č. 11 – Vliv genotypu na relativní zastoupení kyseliny palmitové v uropygiálním sekretu.



Graf č. 12 – Vliv celkové hmotnosti kuřat na relativní zastoupení kyseliny stearové v uropygiálním sekretu.



Graf č. 13 – Vliv velikosti (objemu) uropygiální žlázy na relativní zastoupení kyseliny palmitové v uropygiálním sekretu u genotypů Ross 308 a ISA Dual.



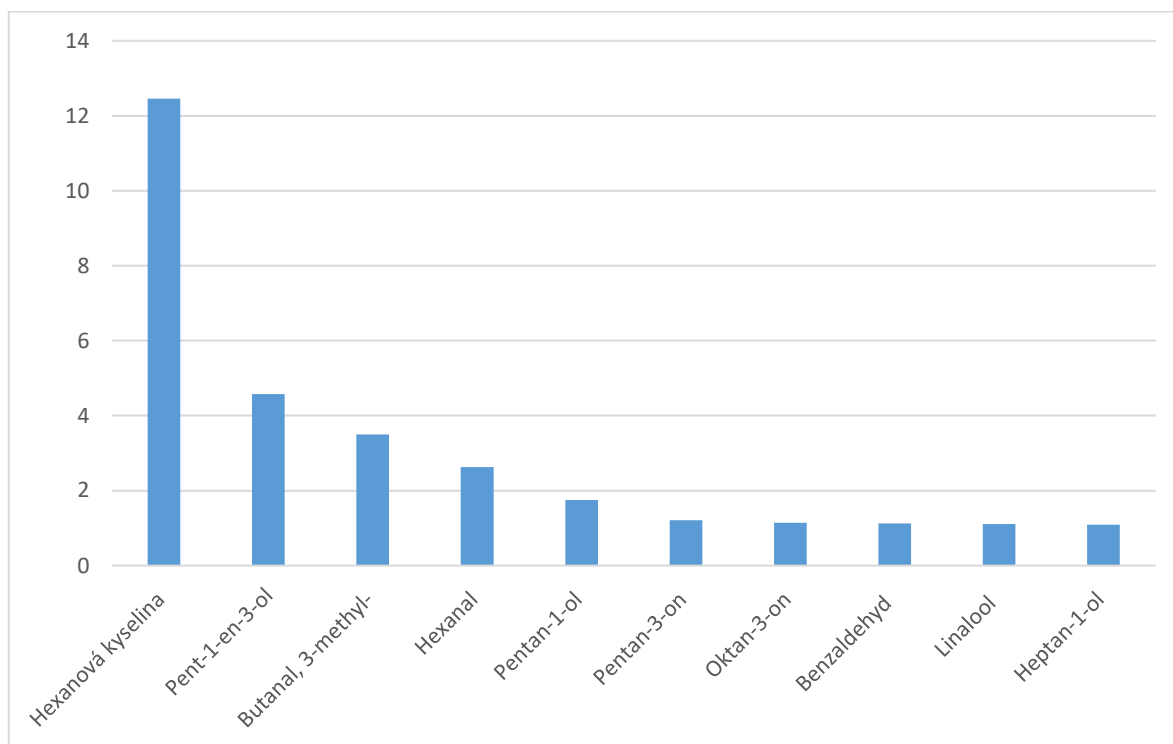
5.7 Těkavé organické látky (VOCs = „volatile organic compounds“) detekované v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat

V uropygiálním sekretu bylo detekováno celkem 77 těkavých organických látek. Jejich kompletní přehled uvádí Příloha č. 3. Všechny látky byly předběžně určeny. Nicméně je nutno podotknout, že 31 z těchto 77 látek jsme označili jako potenciální kontaminanty s málo pravděpodobným výskytem v živých organismech (viz Příloha č. 3). Ze zbylých 46 látek s prokázaným výskytem v živých organismech byla nejvíce zastoupená kyselina hexanová. Těkavé organické sloučeniny s nejvyšším relativním zastoupením jsou uvedeny v Tabulce č. 12 a Grafu č. 14.

Tabulka č. 12 – Přehled dominantních těkavých organických látek s nejvyššími relativními koncentracemi v uropygiálním sekretu brojlerových kuřat ISA Dual a Ross 308 (po vyřazení možných kontaminantů). Relativní kvantifikace byla realizována pomocí porovnání charakteristických fragmentů látek s charakteristickým fragmentem pro vnitřní standard (IS).

Pořadí sloučeniny	Název sloučeniny	Relativní koncentrace (%)	Retenční čas Rt (min.)	Retenční index I _x	Skupina sloučenin
1	Hexanová kyselina	12,46	21,295	977	karboxylová kyselina
2	Pent-1-en-3-ol	4,58	13,035	685	alkohol
3	Butanal, 3-methyl-	3,50	12,185	658	aldehyd
4	Hexanal	2,63	16,712	803	aldehyd
5	Pentan-1-ol	1,75	15,648	768	alkohol
6	Pentan-3-on	1,21	13,42	697	keton
7	Oktan-3-on	1,14	21,587	989	keton
8	Benzaldehyd	1,13	21,665	992	aldehyd
9	Linalool	1,11	24,27	1110	alkohol
10	Heptan-1-ol	1,09	21,183	973	alkohol

Graf č. 14 – Nejdominantnější těkavé organické látky a jejich relativní koncentrace v uropygiálním sekretu brojlerových kuřat ISA Dual a Ross 308 (po vyřazení možných kontaminantů).



V analýze faktorů ovlivňujících relativní podíl deseti nejdominantnějších těkavých organických látek byl prokázán silný vliv genotypu a pohlaví, zatímco stejně jako v případě MK, restrikce krmiva neměla na syntézu těkavých organických látek v uropygiální žláze žádný vliv (Tabulka č. 13). Efekt pohlaví a genotypu však nebyl patrný pro všech 10 sloučenin, ale jen pro vybrané z nich (Tabulka č. 14 a 15). Nicméně pro většinu z nich byly nalezeny vyšší relativní podíly u genotypu Ross 308 v porovnání s genotypy ISA Dual (Grafy č. 16–18). V případě efektu pohlaví byl průkazný pouze vliv na relativní podíl 3-methylbutanal, který byl průkazně vyšší u slepiček v porovnání s kohoutky (Graf č. 15).

Tabulka č. 13 – Výsledky jednocestné MANOVA („Multiple Analysis of Variance“) sledující vliv genotypu, pohlaví a restrikce krmiva na relativní podíly deseti nejdominantnějších těkavých organických látek detekovaných v sekretech uropygiální žlázy brojlerových kuřat. Signifikantní proměnné a jejich hodnoty významnosti na hladině signifikance ($\alpha = 0,05$) jsou vyznačeny tučně.

	Df	Pillai approx.	F value	Pr(>F)
genotyp	10	0,78836	20,487	<<0,0001***
pohlaví	10	0,33113	2,7228	<0,01**
restrikce krmiva	10	0,23443	1,6842	0,108

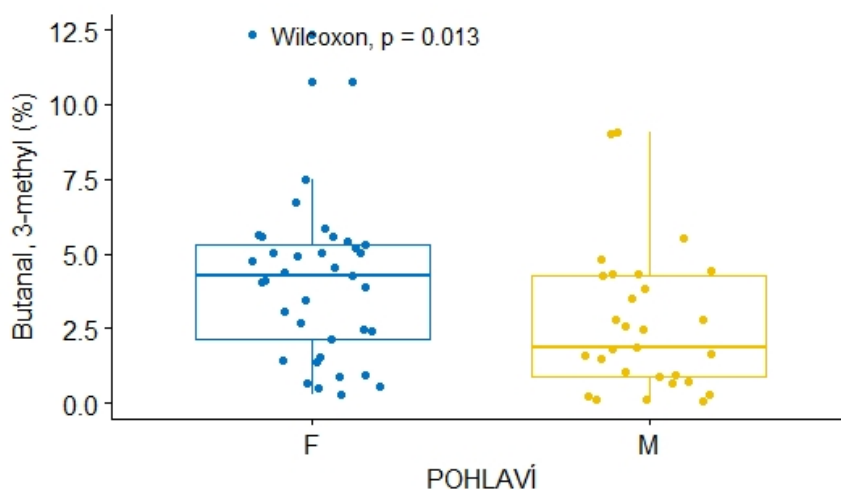
Tabulka č. 14 – ANOVA tabulka testující efekt genotypu na průkazné rozdíly v relativním zastoupení deseti nejdominantnějších těkavých organických látek (VOCs) v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat. Signifikantní rozdíly pro dané VOCs a testované faktory na hladině signifikance ($\alpha = 0,05$) jsou vyznačeny tučně.

Proměnná	GENOTYP			
	Sloučenina	Df	Mean Sq	F value
Hexanová kyselina	1	4788,8	58,795	<<0,0001***
Pent-1-en-3-ol	1	602,32	41,764	<<0,0001***
Butanal, 3-methyl-	1	147,263	31,405	<<0,0001***
Hexanal	1	13,2327	2,6734	0,1069
Pentan-1-ol	1	3,8920	3,2413	0,07652
Pentan-3-on	1	20,5902	26,709	<<0,0001***
Oktan-3-on	1	1,4234	0,95	0,3334
Benzaldehyd	1	0,71596	0,3115	0,5787
Linalool	1	0,50398	5,2552	0,02518*
Heptan-1-ol	1	0,58994	1,6362	0,2055

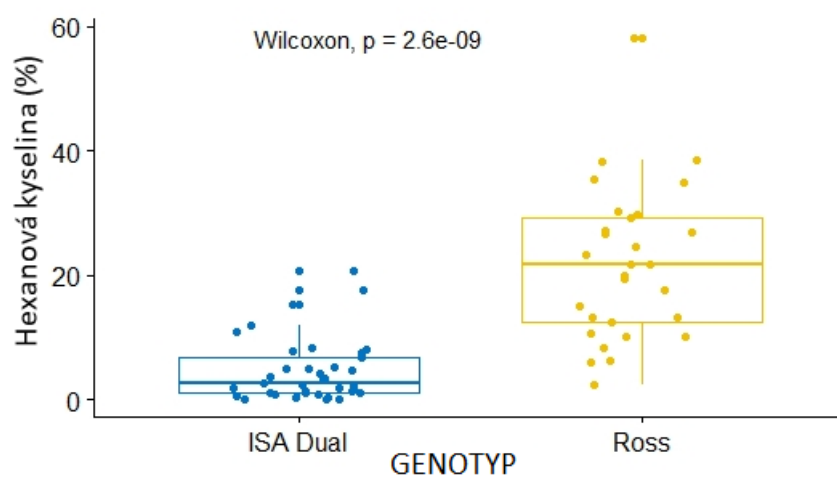
Tabulka č. 15 – ANOVA tabulka testující efekt pohlaví na průkazné rozdíly v relativním zastoupení deseti nejdominantnějších těkavých organických látek (VOCs) v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat. Signifikantní rozdíly pro dané VOCs a testované faktory na hladině signifikance ($\alpha = 0,05$) jsou vyznačeny tučně.

Proměnná	POHLAVÍ			
	Sloučenina	Df	Mean Sq	F value
Hexanová kyselina	1	77,826	0,5019	0,4812
Pent-1-en-3-ol	1	43,188	1,8649	0,1768
Butanal, 3-methyl-	1	31,848	4,9054	0,03034*
Hexanal	1	9,5429	1,9058	0,1722
Pentan-1-ol	1	1,8626	1,5113	0,2234
Pentan-3-on	1	0,71304	0,6593	0,4198
Oktan-3-on	1	0,90472	0,6006	0,4412
Benzaldehyd	1	3,6690	1,6289	0,2065
Linalool	1	0,057056	0,5546	0,4592
Heptan-1-ol	1	0,00141	0,0038	0,951

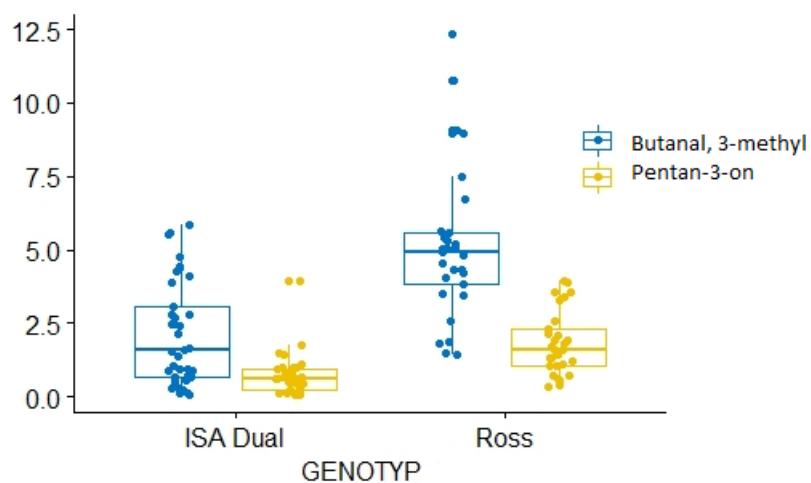
Graf č. 15 – Rozdíly v relativní koncentraci 3-methylbutanalů v závislosti na pohlaví brojlerových kuřat (modře = F (slepičky), žlutě = M (kohoutci)).



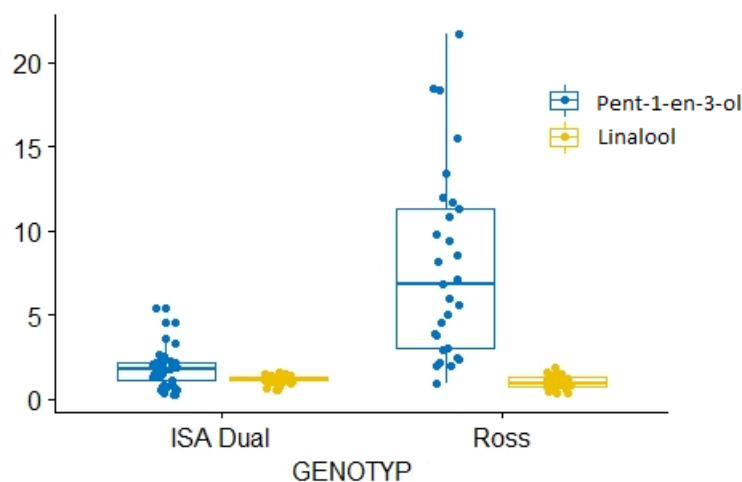
Graf č. 16 – Rozdíly v relativní koncentraci kyseliny hexanové u genotypu ISA Dual a Ross 308.



Graf č. 17 – Rozdíly v relativní koncentraci 3-methylbutanal a pentan-3-onu u genotypů ISA Dual a Ross 308.



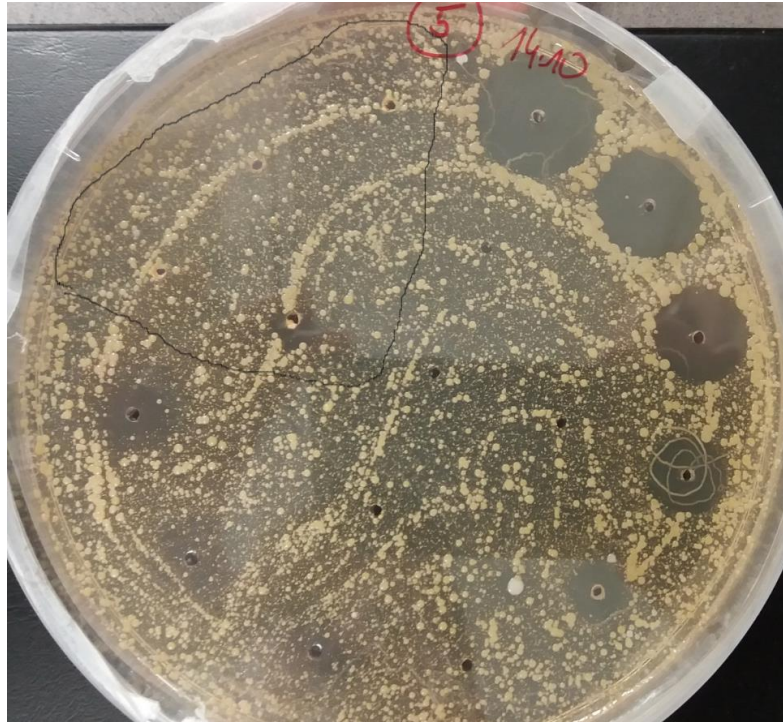
Graf č. 18 – Rozdíly v relativní koncentraci pent-1-en-3-olu a linaloolu u genotypů ISA Dual a Ross 308.



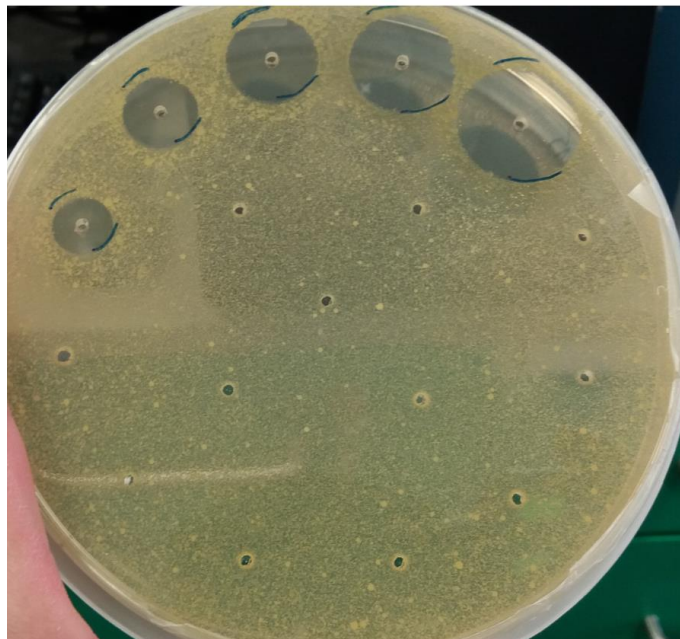
5.8 Antibakteriální aktivita proti *Micrococcus luteus*

Antimikrobiální aktivita uropygiálního sekretu proti mikroorganismu *Micrococcus luteus* nebyla prokázána. Samotný sekret nezpůsobil inhibici růstu bakteriálních kolonií. Na Obrázku č. 6 je znázorněn růst bakterií po přidání 4 mg sekretu. Uropygiální sekret nevykazoval inhibici růstu *Micrococcus luteus* ani v kombinaci s rozpouštědlem. Na Obrázku č. 7 a 8 je znázorněn růst kolonií *Micrococcus luteus* v přítomnosti sekretu homogenizovaného v 0,1% DMSO ve fosfátovém pufru. Nejsou zde patrné žádné inhibiční zóny, viditelné jsou 4 inhibiční zóny po nanesení kontrolního vzorku kalibrace.

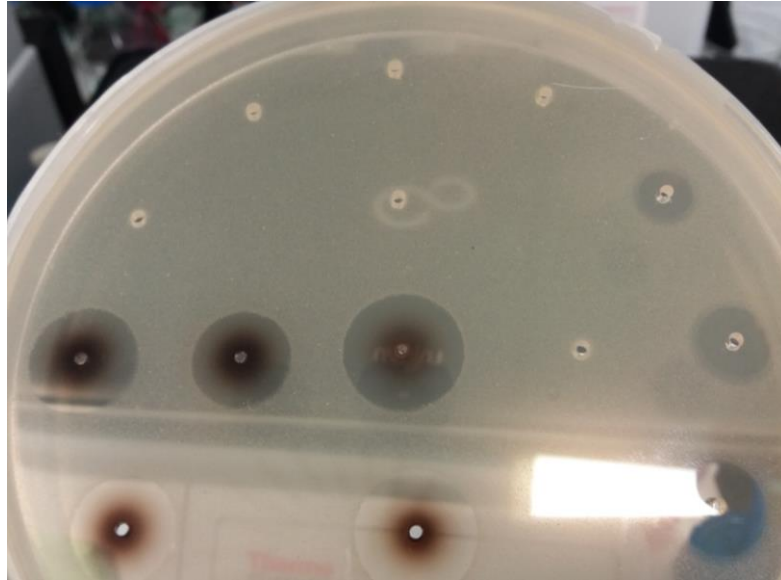
Obrázek č. 6 – Růst *Micrococcus luteus* po přidání 4 mg uropygiálního sekretu (vzorky nanесeny do jamek v ploše ohraničené černě). Viditelné inhibiční zóny vpravo reprezentují antimikrobiální efekt kalibračního roztoku lysozymu.



Obrázek č. 7 – Aktivita sekretu homogenizovaném ve fosfátovém pufru proti *Micrococcus luteus* (4 mg sekretu v 20 μ l 0,1% DMSO ve fosfátovém pufru). Jamky v horní části misky obsahují kalibrační roztok lysozymu.



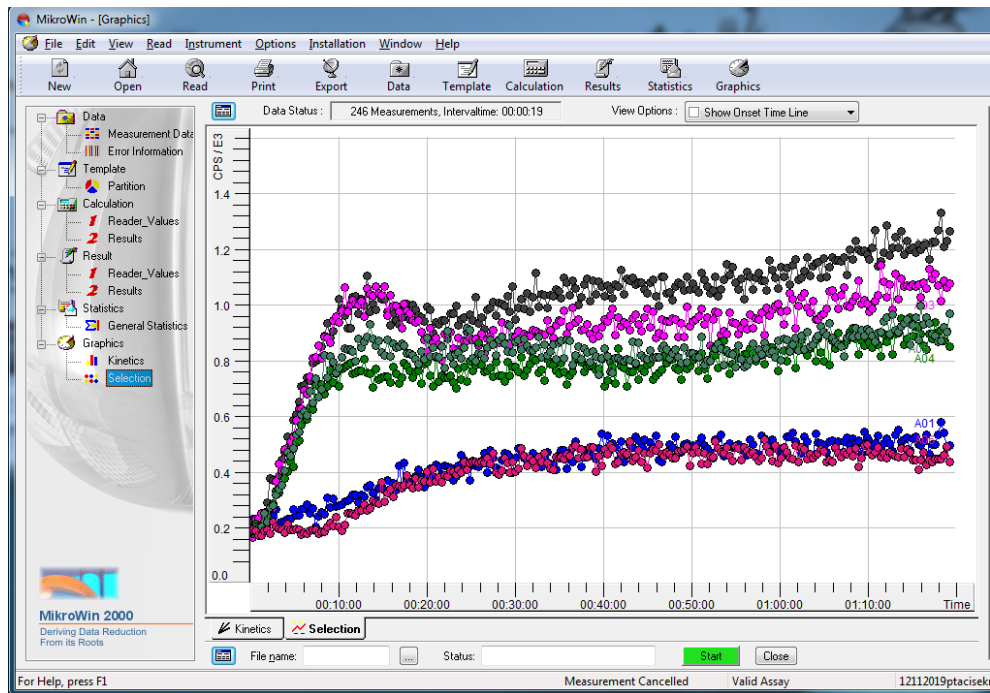
Obrázek č. 8 – Aktivita sekretu homogenizovaném ve fosfátovém pufru proti *Micrococcus luteus* (5-5,5 mg sekretu v 70 μ l 0,1% DMSO ve fosfátovém pufru). Do pěti jamek v horní části misky je nanesen blank a čtyři testované vzorky. Jamky v dolní a pravé části misky obsahují kalibrační roztok lysozymu.



5.9 Antibakteriální aktivita proti *Escherichia coli*

Antimikrobiální aktivita uropygiálního sekretu proti *Escherichia coli* také nebyla prokázána. Všechny testované vzorky sekretů způsobily počáteční nárůst počtu bakterií, což je ovšem v tomto typu analýzy poměrně běžný jev. U žádného ze vzorků ale nedošlo k následné inhibici růstu bakterie *E. coli*. Průběh reakce je znázorněn na Obrázku č. 9.

Obrázek č. 9 – Bioluminescence *Escherichia coli* při inkubaci se vzorky uropygiálních sekretů. Dvě dolní křivky označují slepý vzorek a 0,1% DMSO ve fosfátovém pufru. Žádný testovaný vzorek nevykazuje antimikrobiální aktivitu proti *E. coli*.



6 DISKUZE

6.1. Faktory ovlivňující velikost uropygiální žlázy u brojlerových kuřat

V naší studii se nám podařilo prokázat efekt genotypu a pohlaví na velikost uropygiální žlázy, kdy větší velikost (objem) uropygiální žlázy měli kohoutci v porovnání se slepičkami, avšak tento efekt byl patrný pouze u genotypu ISA Dual. Velikost uropygiální žlázy jedince ovlivňuje mnoho faktorů. Golüke & Caspers 2017 našli vztah mezi velikostí těla a uropygiální žlázy u zebříčky pestré (*Taeniopygia guttata* Vieillot, 1817), kdy těžší jedinci měli také větší velikost uropygiální žlázy. V naší studii jsme toto neprokázali. Jako vysvětlení se zde nabízí se hned několik příčin. Je možné, že námi zkoumaná brojlerová kuřata nebyla plně vyvinuta a ještě nedosáhla konečné živé hmotnosti. Golüke & Caspers 2017 zkoumali jedince, kteří již dosáhli plné dospělosti, a jejich hmotnost se již neměnila. U našich kuřat mohly v průběhu času nastat další změny v poměru hmotnosti těla a velikosti uropygiální žlázy, které jsme však nezachytili. Jako jedna z dalších příčin je, že nepřítomnost vztahu mezi velikostí těla a uropygiální žlázy je v důsledku šlechtění. Při šlechtění hospodářských zvířat je snaha o co největší uniformitu, tedy stejnou hmotnost a vzhled všech zvířat. Je možné, že pokud by byly v chovu extrémní odchylky v hmotnostech zvířat, také bychom zde pozorovali efekt velikosti těla na objem uropygiální žlázy. Odchylky v hmotnosti námi studovaných jedinců byly velmi malé a tento efekt se tak nemohl plně projevit.

Z hlediska závislosti velikosti uropygiální žlázy a pohlaví byly u různých ptačích druhů objeveny všechny možné kombinace. Některé studie pozorovaly, že se velikost uropygiální žlázy u samců a samic neliší (Ruiz-Rodríguez et al. 2015; Golüke & Caspers 2017). Jiné naopak prokázaly větší žlázu u samců (Martín-Vivaldi et al. 2009; Møller 2009), či u samic (Pap et al. 2010).

Kromě vlivu pohlaví však může však docházet k sezónním změnám ve velikosti uropygiální žlázy v závislosti na období rozmnožování. Tento nárůst ve velikosti a objemu žlázy může být velmi výrazný. Například u dudka chocholatého mají v období reprodukce větší žlázu samice, v ostatních obdobích roku je tomu naopak (Martín-Vivaldi et al. 2009).

U genotypu Ross 308 nebyly nalezeny žádné rozdíly ve velikosti žlázy mezi kohoutky a slepičkami. Tento fakt může být opět způsoben tím, že jsme zkoumali ještě nedospělé jedince. Intenzivním šlechtěním také může dojít u obou pohlaví k potlačení velikosti uropygiální žlázy ve prospěch jiných tělních struktur. U genotypu ISA Dual měli kohoutci signifikantně větší uropygiální žlázu než slepičky. Tento stav je přirozený i pro další ptačí druhy (Martín-Vivaldi et al. 2009). V období snášky by mohli mít naopak větší žlázu slepičky, protože v důsledku hormonálních změn dochází u samic k výraznému zvětšení uropygiální žlázy. Rozdíly mezi genotypy Ross 308 a ISA Dual mohou být způsobeny různými šlechtitelskými cíly. Zatímco u masných hybridů je snaha o maximální nárůst svaloviny a nízkou konverzi krmiva, u kombinovaného genotypu je také zohledněna produkce konzumních vajec. Šlechtění na vybrané užitkové vlastnosti sebou nese také změny v dalších fyziologických a morfologických parametrech, jakými mohou být velikost uropygiální žlázy nebo biochemické složení sekretů.

6.2 Výskyt MK a faktory ovlivňující obsah MK v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat

Celkem jsme v uropygiálních sekretech kuřat genotypu Ross 308 a ISA Dual detekovali 34 mastných kyselin (MK) s délkou řetězce od 4 do 24 uhlíků. Z tohoto počtu 17 patřilo mezi nasycené MK, 7 mezi mononenasyčené MK a 10 mezi polynenasycené MK (Příloha č. 2). Kromě MK detekovaných v předchozích studiích jsme rovněž detekovali 14 MK, které nebyly v předchozích studiích dosud zaznamenány. Tyto mastné kyseliny nebyly nalezeny ve studiích autorů Apandi & Edwards 1964; Pan et al. 1979; Saito & Gamo 1968 a Kanakri et al. 2018, které se zabývaly složením uropygiálního sekretu kura domácího.

Uropygiální žláza je zdrojem vzácných lipidů, které se liší od ostatních druhů lipidů v těle, například zásobního tuku (Lillard & Toledo 1976) a které se jinde v těle nevyskytují (Saito & Gamo 1968). Naše výsledky toto potvrdily. Výskyt vzácných mastných kyselin s krátkým řetězcem, s rozvětveným řetězcem nebo lichým počtem uhlíků je typický pro lipidy uropygiální žlázy, zatímco jinde je jejich výskyt jen ojedinělý (Saito & Gamo 1968).

Největší vliv na relativní podíl nasycených, mononenasyčených i polynenasycených masných kyselin měla příslušnost jedinců ke genotypu. Výrazné rozdíly mezi genotypy Ross 308 a ISA Dual jsou s velkou pravděpodobností způsobeny jejich dlouhodobým šlechtěním. I když uropygiální žláza a její sekrety nejsou nijak zohledněny v selekčním programu, díky pleiotropii genů a různými interakcemi mezi nimi může docházet ke změnám také v těchto vlastnostech. Jelikož syntéza vosků tvořících uropygiální sekret je energeticky náročná (Kolattukudy 2015), námi prokázaný nižší relativní podíl MK v uropygiálních sekretech u genotypu Ross 308 bylo možné očekávat, vzhledem k požadavku na rychlý růst, který vedl pravděpodobně k potlačení funkce a syntézy biochemicky aktivních látek ve žláze. Toto bylo i experimentálně potvrzeno u malajského hybridu Akar Putra, kdy po odstranění uropygiální žlázy došlo ke zlepšení přírůstků, vyšší tělesné hmotnosti a nižší konverze krmiva (Jawad et al. 2015).

V našich výsledcích neměla restrikce krmiva vliv na relativní zastoupení žádné ze sledovaných skupin mastných kyselin. Vliv mastných kyselin v potravě na složení zásobního tuku kuřat byl mnohokrát prokázán. Zatímco použití různých tuků a olejů v potravě vede ke změnám ve složení tuku v těle kuřat (Ajuyah et al. 1991), zastoupení mastných kyselin v uropygiálních sekretech neodráží hladiny mastných kyselin v krvi a mase (Kanakri et al. 2018). To dokládá i studie, ve které byly husy krmeny červeným azobarvivem Sudan III po dobu několika měsíců, a zatímco tělní tuk hus byl obarven a měl oranžovou barvu, zbarvení uropygiálních sekretů zůstalo nezměněno (Paris 1913). Podobně Kanakri et al. 2018 našli vztah mezi dietou a složením uropygiálních sekretů pouze u zanedbatelného počtu testovaných mastných kyselin. Naše výsledky tak souhlasí s těmito předchozími studiemi, jelikož potvrdily, že dieta neovlivňuje složení uropygiálních sekretů brojlerových kuřat.

U obou testovaných genotypů byla naměřena nejvyšší koncentrace kyseliny stearové, na druhém místě byla kyselina palmitová. Složení uropygiálních sekretů je výrazně ovlivněno věkem kuřat, ročním obdobím i hormonálními hladinami (Kolattukudy & Sawaya 1974; Pan et al. 1979; Sandilands et al. 2004). Tyto jevy měly pravděpodobně za následek možné

nesrovnalosti mezi našimi výsledky a výsledky jiných autorů. Sandilands et al. 2004 detekovali u nosnic nejvyšší koncentrace kyseliny stearové (22,4–34,9 %) a palmitové (9,9–23,2 %). Hodnoty jsou podobné našim výsledkům (Příloha č. 4). Kanakri et al. 2018 detekovali jako nejčastěji zastoupenou kyselinu myristovou, následovanou palmitovou a stearovou. U obou testovaných genotypů byla kyselina myristová rovněž jednou z nejčastějších. V případě genotypu Ross 308 byla 3. v pořadí, u genotypu ISA Dual na 6. místě. Intenzivní šlechtění má za následek různou rychlost růstu a dospívání, což může vysvětlovat rozdíly ve složení mastných kyselin mezi genotypy Ross 308 a ISA Dual.

Karlsson et al. 2010 zjistili, že mezi jedinci kura bankivského existují individuální rozdíly v koncentracích mastných kyselin v uropygiálních sekretech. Naše výsledky u brojlerových genotypů toto jednoznačně potvrdily, jelikož i u námi testovaných jedinců existovala velká variabilita v koncentracích jednotlivých mastných kyselin (viz Příloha č. 4 znázorňující tuto variabilitu u několika náhodně vybraných mastných kyselin).

6.3 Analýza těkavých organických látek

Celkem jsme v naší studii zaznamenali v uropygiálních sekretech brojlerových kuřat 77 těkavých organických látek. Nejvíce zastoupená byla kyselina hexanová (12,46 %). V našich analýzách mastných kyselin byla její koncentrace řádově nižší (1 – 2 %). Tento rozdíl v relativních podílech však mohl být s velkou pravděpodobností způsoben citlivostí zvolené analytické metody. V uropygiálním sekretu jsme dále detekovali také alkoholy, aldehydy, ketony a uhlovodíky.

VOCs v sekretech mohou pomáhat v ochraně proti ektoparazitům (Douglas et al. 2004). Aldehydy n-hexanal, n-oktanal a n-dekanal byly identifikovány v uropygiálních sekretech alkounka chocholatého (*Aethia cristatella* (Pallas, 1769)) a mají pravděpodobně repelentní funkci v ochraně před ektoparazity (Douglas et al. 2001).

Tato repelentní funkce byla již popsána i u některých látek, které jsme detekovali. Komáři mají schopnost vnímat karboxylové kyseliny (Cork & Park 1996). Receptory komára tropického (*Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)) vykazují silnou aktivaci v přítomnosti kyseliny butanové, pentanové a hexanové (Lacher 1967). Kyselina nonanová má repelentní účinek a v její přítomnosti je samicím komára zabráněno v kladení vajíček (Hwang et al. 1982). Ostatní karboxylové kyseliny s 6 až 12 uhlíky rovněž ovlivňují ovipozici vajíček, ale repelentní účinek nastává až při použití vyšších koncentrací (Hwang et al. 1982).

Bosch et al. 2000 rovněž testovali mastné kyseliny a jejich účinek na komáry. Zjistili, že komáři nejsou přitahováni jedinou látkou, ale komplexní směsí těkavých látek. Zatímco samostatné mastné kyseliny nemusejí mít žádný nebo slabě repelentní účinek, při jejich kombinaci s dalšími těkavými látkami (např. laktátem, amoniakem a oxidem uhličitým) mohou naopak fungovat jako velmi silné atraktanty (Bosch et al. 2000). Rovnováha mezi látkami s repelentním a atraktantním účinkem nakonec rozhoduje, zda je biologický druh vhodným hostitelem komárů (Skinner et al. 1965). Příloha č. 5 znázorňuje preference komára (*Culex pipiens molestus* Forsskål, 1775) k různým ptačím druhům.

Námi provedenou analýzou těkavých organických látek tedy nelze rozhodnout, zda převažuje repelentní či naopak atraktantní účinek uropygiálního sekretu na komáry. K tomuto by bylo nutné provést experimentální studii s živými komáry a sledovat jejich preference k uropygiálnímu sekretu nanesenému na peří. I když máme předběžně určeny látky a známe jejich možné repelentní účinky, nelze odhadnout, jaký by mohl být výsledný efekt pro námi studované jedince brojlerových kuřat.

Kromě komárů je nyní intenzivně zkoumáno použití těkavých látek k likvidaci čmelíka kuřího, který je ekonomicky nejzávažnějším ektoparazitem drůbeže v evropských chovech. Cílem je nalákání čmelíků do pastí na základě chemických signálů a jejich následné zneškodnění (Gay et al. 2020). Řada námi detekovaných volatilních látek má funkci atraktantů pro čmelíka kuřího. Kyselina hexanová, která měla nejvyšší relativní zastoupení v uropygiálním sekretu, má tuto vlastnost. K nalákání čmelíků stačí již množství 10 nanolitřů této kyseliny (Birkett et al. 2010). V sekretech jsme detekovali řadu dalších látek, které působí jako atraktanty na čmelíky (Birkett et al. 2010). Jsou jimi heptanal, nonan, benzaldehyd a undekanal. Rozkladem uropygiálních sekretů v peří se uvolňují těkavé látky, které mají za následek atraktivitu pro čmelíky. Vypadané peří sebrané z podestýlky je tak také silným atraktantem pro čmelíky. Bylo prokázáno, že čmelíci upřednostňují toto peří staré 3 až 4 dny před čerstvým peřím (Koenraad & Dicke 2010). I když se zdá, že uropygiální sekrety mají tuto negativní vlastnost atraktantů pro čmelíky, studium složení sekretů může přispět k objevení způsobu, jak s těmito ektoparazity bojovat. Metody cíleného nalákání a zabití hmyzu jsou zkoumány u mnoha hospodářských škůdců (Michaelakis et al. 2007; Navarro-Llopis et al. 2013). Při úspěšné aplikaci mohou přinést velké ekonomické úspory a zároveň snížit používání insekticidů s řadou negativních účinků na zdraví i životní prostředí. V budoucnu se tedy očekává jejich velký rozvoj.

Je nutno podotknout, že jsme řadu námi detekovaných VOCs byli nuceni prozatím označit za kontaminanty (Příloha č. 3). Tento vysoký výskyt potencionálních kontaminantů mohl být s velkou pravděpodobností způsoben skladováním vzorků sekretů v plastových mikrozkušnicích (Eppendorf), které jsou sice vhodné pro skladování látek k biochemickým účelům, avšak pro studium VOCs nejsou zřejmě úplně vhodné. Díky tomuto zjištění bude určitě v budoucích studiích vhodnější, aby byly vzorky pro analýzy VOCs uchovávány ve skleněných vialkách či byly analyzovány ihned po odběru.

Některé alkany, které mohou být potencionálními kontaminanty, byly však detekovány v uropygiálním sekretu i peří některých druhů ptáků včetně kura domácího (Příloha č. 3). Alkany mohly vzniknout přeměnou jiných látek např. odštěpením uhlíkaté části esterů vosků. Estery vosků (alkan-2,3-dioly) tvoří podstatnou část uropygiálního sekretu kura domácího (Hansen et al. 1969). Výskyt a původ alkanů v uropygiálním sekretu ptáků tak vyžaduje další intenzivní a zevrubné studium.

6.4 Antimikrobní potenciál uropygiálních sekretů

Kromě analýzy mastných kyselin a těkavých látek byla testována antimikrobiální aktivita proti potencionálním patogenním mikroorganismům *Micrococcus luteus* a *Escherichia coli*. U žádného z genotypů jsme antimikrobiální potenciál uropygiálních sekretů neprokázali. Antimikrobiální působení uropygiálních sekretů bylo demonstrováno u některých ptačích druhů (Czirják et al. 2013; Ruiz-Rodríguez et al. 2012). Růst některých bakteriálních druhů a kmenů byl uropygiálními sekrety inhibován, zatímco jiné se zdály být neovlivněny (Shawkey et al. 2003). Jisté je, že působení sekretů má komplexní účinky. Může podporovat prospěšné a indiferentní druhy bakterií, a naopak snižovat počty škodlivých mikroorganismů (Shawkey et al. 2003). Špatná kondice peří může zhoršovat fitness jedince. Predátoři loví především ptáky nemocné a oslabené (Genovart et al. 2010). Ptáci s malou uropygiální žlázou k poměru k velikosti těla (Møller et al. 2010) a s vysokým bakteriálním zatížením peří byly obětí predátorů častěji (Møller et al. 2012).

Experimentální odstranění uropygiální žlázy u drůbeže mělo za následek změny v druhovém složení bakterií v peří (Bandyopadhyay & Bhattacharyya 1996). Narušení přirozené rovnováhy a přemnožení některých mikroorganismů vede k patologickým stavům. Kožní onemocnění způsobená nadměrným nárůstem bakteriálních druhů jsou známa u člověka i hospodářských zvířat (Xu et al. 2016; Pass 1989). Gangrenózní dermatitidy drůbeže byly prokázány jako onemocnění vedoucí k rychlému úhynu a způsobující značné hospodářské ztráty (Gornatti-Churria et al. 2018; Li et al. 2010; Willoughby et al. 1996).

Zde bych nastínila možné hypotézy, proč jsme neprokázali antimikrobiální aktivitu uropygiálních sekretů.

Uropygiální sekret brojlerů nevykazuje antimikrobiální aktivitu vůči žádným bakteriálním druhům. Intenzivním šlechtěním moderních hybridů dochází k potlačení této funkce. Hlavní cíle šlechtění jsou rychlý růst a dobrá konverze krmiva. Z tohoto hlediska je tedy výhodné co nejvíce potlačit velikost uropygiální žlázy a syntézu látek v ní. Získanou energii lze využít pro rozvoj kosterního svalstva. Šlechtění cílené na maximalizaci užitkových vlastností sebou nese i negativní důsledky. Nedostatečný rozvoj důležitých tělních struktur je příčinou například syndromu náhlé smrti brojlerů, kdy oběhová soustava nezvládá požadavky na ni kladené a dochází k srdečnímu selhání (Siddiqui et al. 2009).

Uropygiální sekret vykazuje antimikrobiální aktivitu, ale ne proti druhům, které jsme testovali. Bandyopadhyay & Bhattacharyya 1996 zaznamenali inhibiční efekt sekretů drůbeže vůči *Bacillus* sp., naopak růst jiných bakteriálních druhů byl v jejich studii sekrety podpořen. Bylo by proto žádoucí testovat antimikrobiální aktivitu také u kura bankivského, původního předka dnešních genotypů. Objasnilo by se, zda došlo k sekundární ztrátě antimikrobiální aktivity v důsledku změn navozených šlechtěním nebo zda je tento stav pro kura přirozený.

Uropygiální sekret vykazuje antibakteriální aktivitu pouze *in vivo*. Bandyopadhyay & Bhattacharyya 1996 zaznamenali významný nárůst populace *Staphylococcus aureus* Rosenbach, 1884 po experimentálním odstranění uropygiální žlázy, zatímco v *in vitro* kultuře přidání uropygiálního sekretu nijak neovlivnilo růst bakteriálních kolonií. Autoři Vereá et al. 2017 a Reneerkens et al. 2008 navrhli, že antimikrobiální účinek sekretů spočívá ve vytvoření

fyzické bariéry. Ochrana peří spočívá tedy nikoliv v chemickém složení sekretů, nýbrž ve fyzickém znemožnění přístupu bakterií ke strukturám pera. V *in vitro* kultuře nelze také simulovat možné chemické přeměny látek, ke kterým může docházet v peří vlivem bakterií nebo abiotických faktorů. Řada recentních studií navíc ukazuje, že antimikrobiální účinek sekretů je podmíněn přítomností antimikrobiálních peptidů (van Dijk et al. 2005; Braun et al. 2018). V neposlední řadě, skladování uropygiálních sekretů před samotnými analýzami může mít za následek ztrátu biologické funkce biomolekul v nich obsažených. Zamražením enzymů může dojít k narušení jejich struktury a nevratné ztrátě biologické aktivity (Krausková et al. 2016). Nicméně vzhledem k tomu, že většina autorů předchozích studií, ve kterých byl antimikrobiální efekt uropygiálních sekretů prokázán, využívali zamražených vzorků, jeví se toto vysvětlení jako málo pravděpodobné.

7 ZÁVĚR

- V této práci byly sledovány faktory, které mají vliv na velikost uropygiální žlázy a biochemické složení uropygiálních sekretů kura domácího. K experimentům byla využita komerčně dostupné genotypy Ross 308 a ISA Dual. Byl sledován efekt genotypu, pohlaví, restrikce krmiva, celkové hmotnosti jedince a jejich vzájemné interakce.
- Byl prokázán vliv genotypu, pohlaví a jejich vzájemná interakce na velikost (objem) uropygiální žlázy.
- Celkem bylo v uropygiálních sekretech detekováno 34 mastných kyselin. Z jednotlivých MK dominovala v uropygiálních sekretech kyselina stearová, palmitová, linoelaidová, olejová, linolová a myristová. Nejhojněji zastoupená byla kyselina stearová a palmitová. Pořadí ostatních MK se lišilo v závislosti na genotypu.
- V uropygiálním sekretu bylo detekováno celkem 77 těkavých organických sloučenin. Nejvíce dominovala kyselina hexanová (12,46 %).
- Byly detekovány 14 unikátních MK, které nebyly v uropygiálních sekretech kura domácího doposud prokázány.
- Relativní zastoupení všech skupin MK se zásadně lišilo mezi oběma genotypy. Jedinci genotypu s kombinovanou užitkovostí ISA Dual vykazovali vyšší relativní zastoupení MK v sekretech oproti jedincům masného genotypu Ross 308.
- Relativní zastoupení dominantních těkavých organických látek v sekretech se lišilo v závislosti na pohlaví a genotypu.
- Antimikrobiální potenciál uropygiálních sekretů *in vitro* proti mikroorganismům *Micrococcus luteus* a *Escherichia coli* nebyl prokázán.
- Restrikce krmiva neměla na složení uropygiálních sekretů vliv.
- Tato práce poukazuje na zásadní rozdíly v biochemickém složení sekretů uropygiální žlázy u komerčně chovaných genotypů kura domácího. Potlačený antimikrobiální potenciál, redukce velikosti žlázy, syntézy MK a těkavých organických látek v jejich sekretech může negativně ovlivňovat celkový stav opeření, obranu před ektoparazitami, kondici a welfare jedinců. Těmto atributům je proto nutno při komerčním chovu kuřat věnovat velkou pozornost a kompenzovat je pro dosažení optimální produktivity a zachování všech zásad welfare.

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Abdel-Fattah HM, Moubasher AH, Maghazy SM. 1982. Keratinolytic fungi in Egyptian soils. *Mycopathologia* **79**:49-53.
- Ajuyah AO, Lee KH, Hardin RT, Sim JS. 1991. Changes in the yield and in the fatty acid composition of whole carcass and selected meat portions of broiler chickens fed full-fat oil seeds. *Poultry Science* **70**:2304-2314.
- Allan SA, Bernier UR, Kline DL. 2014. Laboratory evaluation of avian odors for mosquito (Diptera: Culicidae) attraction. *Journal of Medical Entomology* **43**:225-231.
- Amo L, Avilés JM, Parejo D, Peña A, Rodríguez J, Tomás G. 2012. Sex recognition by odour and variation in the uropygial gland secretion in starlings. *Journal of Animal Ecology* **81**:605-613.
- Apandi M, Edwards Jr HM. 1964. Studies on the composition of the secretions of the uropygial gland of some avian species. *Poultry Science* **43**:1445-1462.
- Aslam B, et al. 2018. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infection and Drug Resistance* **11**:1645-1658.
- Atyeo WT, Gaud J. 1987. Feather mites (Acarina) of the parakeet, *Melopsittacus undulatus* (Shaw) (Aves: Psittacidae). *The Journal of Parasitology* **73**:203-206.
- Axtell RC, Arends JJ. 1990. Ecology and management of arthropod pests of poultry. *Annual Review of Entomology* **35**:101-126.
- Bach E, Daroit DJ, Corrêa APF, Brandelli A. 2011. Production and properties of keratinolytic proteases from three novel Gram-negative feather-degrading bacteria isolated from Brazilian soils. *Biodegradation* **22**:1191 DOI: 10.1007/s10532-011-9474-0.
- Bahar A, Ren D. 2013. Antimicrobial peptides. *Pharmaceuticals* **6**:1543-1575.
- Balthazart J, Taziaux M. 2009. The underestimated role of olfaction in avian reproduction? *Behavioural Brain Research* **200**:248-259.
- Bandyopadhyay A, Bhattacharyya SP. 1996. Influence of fowl uropygial gland and its secretory lipid components on growth of skin surface bacteria of fowl. *Indian Journal of Experimental Biology* **34**:48-52.

- Bandyopadhyay A, Bhattacharyya SP. 1999. Influence of fowl uropygial gland and its secretory lipid components on the growth of skin surface fungi of fowl. *Indian Journal of Experimental Biology* **37**:1218-1222.
- Bernier UR, Allan SA, Quinn BP, Kline DL, Barnard DR, Clark GG. 2008. Volatile compounds from the integument of White Leghorn Chickens (*Gallus gallus domesticus* L.): candidate attractants of ornithophilic mosquito species. *Journal of Separation Science* **31**:1092-1099.
- Bernier UR, Kline DL, Posey KH, Booth MM, Yost RA, Barnard DR. 2003. Synergistic attraction of *Aedes aegypti* (L.) to binary blends of L-lactic acid and acetone, dichloromethane, or dimethyl disulfide. *Journal of Medical Entomology* **40**:653-656.
- Bertsch A, Coello N. 2005. A biotechnological process for treatment and recycling poultry feathers as a feed ingredient. *Bioresource Technology* **96**:1703-1708.
- Birkett M, Pickett J, Dewhirst S, Jespersen JB, Kilpinen OØ. 2010. Use of a carboxylic acid or an aldehyde. World Intellectual Property Organization, United Nations. WO 2010/130990 A2.
- Blanco G, Tella JL, Potti J. 1997. Feather mites on group-living red-billed choughs: a non-parasitic interaction? *Journal of Avian Biology* **28**:197-206.
- Blanco G, Tella JL, Potti J, Baz A. 2001. Feather mites on birds: costs of parasitism or conditional outcomes? *Journal of Avian Biology* **32**:271-274.
- Blokhuis HJ. 1986. Feather-pecking in poultry: its relation with ground-pecking. *Applied Animal Behaviour Science* **16**:63-67.
- Bokkers EA, Koene P. 2003. Behaviour of fast-and slow growing broilers to 12 weeks of age and the physical consequences. *Applied Animal Behaviour Science* **81**:59-72.
- Bonadonna F, Miguel E, Grosbois V, Jouventin P, Bessiere JM. 2007. Individual odor recognition in birds: an endogenous olfactory signature on petrels' feathers? *Journal of Chemical Ecology* **33**:1819-1829.
- Bonadonna F, Sanz-Aguilar A. 2012. Kin recognition and inbreeding avoidance in wild birds: the first evidence for individual kin-related odour recognition. *Animal Behaviour* **84**:509-513.
- Bonser RH, Witter MS. 1993. Indentation hardness of the bill keratin of the European starling. *The Condor* **95**:736-738.
- Borchelt PL, Duncan L. 1974. Dustbathing and feather lipid in bobwhite (*Colinus virginianus*). *The Condor* **76**:471-472.

- Borchelt PL, Eyer J, McHenry DS Jr. 1973. Dustbathing in Bobwhite quail (*Colinus virginianus*) as a function of dust deprivation. *Behavioral Biology* **8**:109-114.
- Bosch OJ, Geier M, Boeckh J. 2000. Contribution of fatty acids to olfactory host finding of female *Aedes aegypti*. *Chemical Senses*, **25**:323-330.
- Bradbury JH. 1973. The structure and chemistry of keratin fibers. Pages 111-211 in Anfinsen CB, Edsall JT, Richards FM, editors. *Advances in Protein Chemistry*. Volume 27. Academic Press, New York.
- Brady J. 1970. The mites of poultry litter. Observations on the bionomics of common species, with a species list for England and Wales. *Journal of Applied Ecology* **7**:331-348.
- Braun MS, Sporer F, Zimmermann S, Wink M. 2018. Birds, feather-degrading bacteria and preen glands: the antimicrobial activity of preen gland secretions from turkeys (*Meleagris gallopavo*) is amplified by keratinase. *FEMS microbiology ecology* 94:fiy117 DOI: 10.1093/femsec/fiy117.
- Brooke ML. 1985. The effect of allopreening on tick burdens of molting eudyptid penguins. *The Auk* **102**:893-895.
- Burt EH Jr, Ichida JM. 1999. Occurrence of feather-degrading bacilli in the plumage of birds. *The Auk* **116**:364-372.
- Burt EH Jr, Schroeder MR, Smith LA, Sroka JE, McGraw, KJ. 2011. Colourful parrot feathers resist bacterial degradation. *Biology Letters* **7**:214-216.
- Cater DB, Lawrie NR. 1950. Some histochemical and biochemical observations on the preen gland. *The Journal of Physiology* **111**:231-243.
- Chauve C. 1998. The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): current situation and future prospects for control. *Veterinary parasitology* **79**:239-245.
- Chen BL, Haith KL, Mullens BA. 2011. Beak condition drives abundance and grooming-mediated competitive asymmetry in a poultry ectoparasite community. *Parasitology* **138**:748-757.
- Chiale MC, Fernández PE, Gimeno EJ, Barbeito C, Montalti D. 2014. Morphology and histology of the uropygial gland in Antarctic birds: relationship with their contact with the aquatic environment? *Australian Journal of Zoology* **62**:157-165.
- Chirico J, Eriksson H, Fossum O, Jansson D. 2003. The poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, a potential vector of *Erysipelothrix rhusiopathiae* causing erysipelas in hens. *Medical and Veterinary Entomology* **17**:232-234.

- Clayton DH, Koop JA, Harbison CW, Moyer BR, Bush SE. 2010. How birds combat ectoparasites. *The Open Ornithology Journal* **3**:41-71.
- Clayton DH, Lee PL, Tompkins DM, Brodie III ED. 1999. Reciprocal natural selection on host-parasite phenotypes. *The American Naturalist* **154**:261-270.
- Clayton DH, Moyer BR, Bush SE, Jones TG, Gardiner DW, Rhodes BB, Goller F. 2005. Adaptive significance of avian beak morphology for ectoparasite control. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science* **272**:811-817.
- Cook ME, Sand J, Olson JM, Barry TP. 2018. Compositions containing preen oil and methods of use thereof. The United States Patent and Trademark Office, USA. US 9943480 B2.
- Cork A, Park KC. 1996. Identification of electrophysiologically-active compounds for the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, in human sweat extracts. *Medical and Veterinary Entomology* **10**:269-276.
- Czirják GÁ, Pap PL, Vágási CI, Giraudeau M, Mureşan C, Mirleau P, Heeb P. 2013. Preen gland removal increases plumage bacterial load but not that of feather-degrading bacteria. *Naturwissenschaften* **100**:145-151.
- da Silva APA, de Oliveira CDL, Quirino AMS, da Silva FDM, de Aquino Saraiva R, Silva-Cavalcanti JS. 2018. Endocrine Disruptors in Aquatic Environment: Effects and Consequences on the Biodiversity of Fish and Amphibian Species. *Aquatic Science and Technology* **6**:35-51.
- Daniel JY, Vignon F, Assenmacher I, Rochefort H. 1977. Evidence of androgen and estrogen receptors in the preen gland of male ducks. *Steroids* **30**:703-709.
- Delius J. 1970. The effect of daytime, tides and other factors on some activities of lesser blacked-backed gulls, *Larus fuscus*. *Revue du Comportement animal* **4**:3-11.
- Delogu M, De Marco MA, Di Trani L, Raffini E, Cotti C, Puzelli S, Ostanello F, Webster RG, Cassone A, Donatelli I. 2010. Can preening contribute to influenza A virus infection in wild waterbirds? *PLoS One* **5** (e11315) DOI: 10.1371/journal.pone.0011315.
- DeVaney JA. 1978. A survey of poultry ectoparasite problems and their research in the United States. *Poultry Science* **57**:1217-1220.
- Douglas HD. 2006. Measurement of chemical emissions in crested auklets (*Aethia cristatella*). *Journal of Chemical Ecology* **32**:2559-2567.
- Douglas HD, Co JE, Jones TH, Conner WE, Day JF. 2005. Chemical odorant of colonial seabird repels mosquitoes. *Journal of Medical Entomology* **42**:647-651.

- Douglas HD, Jones T, Conner W. 2001. Heteropteran chemical repellents identified in the citrus odor of a seabird (crested auklet: *Aethia cristatella*): evolutionary convergence in chemical ecology. *Naturwissenschaften* **88**:330-332.
- Douglas HD, Jones TH, Conner WE. 2004. Interspecific differences in *Aethia* spp. auklet odorants and evidence for chemical defense against ectoparasites. *Journal of Chemical Ecology* **30**:1921-1935.
- Duncan IJH. 1980. The Ethogram of the Domesticated Hen. Pages 5-18 in Moss R, editor. *The Laying Hen and its Environment. Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science. Volume 8.* Springer, Dordrecht.
- Duriati A, Jung M, Mann J, Smith GP. 1993. Synthesis of analogues of squalene as potential anti-fungal agents. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*:3073-3076.
- Dutta S, Das SK, Bhattacharyya SP. 1997. Composition of lipids from the glands of the external ear canal of the adult chicken. *Folia Biologica* **45**:3-4.
- Edkins E, Hansen IA. 1972. Wax esters secreted by the uropygial glands of some Australian waterfowl, including the magpie goose. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* **41**:105-112.
- Edkins E, Hansen IA. 1976. Wax esters secreted by the uropygial glands of some anseriformes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* **53**:93-95.
- Elias PM, Menon GK, Grayson S, Brown BE, Rehfeld SJ. 1987. Avian sebocytes and marine mammal lipocytes: structural, lipid biochemical, and functional considerations. *American Journal of Anatomy* **180**:161-177.
- Ellendoif F, Klein S, Nandi S, McBride D, Blanco R, Clinton M, Hardy ICW. 2003. Avian sex determination and sex diagnosis. *World's Poultry Science Journal* **59**:5-64.
- Fain A. 1994. Adaptation, specificity and host-parasite coevolution in mites (Acari). *International Journal for Parasitology* **24**:1273-1283.
- Fallis AM, Smith SM. 1964. Ether extracts from birds and CO₂ as attractants for some ornithophilic simuliids. *Canadian Journal of Zoology* **42**:723-730.
- Fendri A, Louati H, Sellami M, Gargouri H, Smichi N, Zarai Z, Aissa I, Miled N, Gargouri Y. 2012. A thermoactive uropygial esterase from chicken: Purification, characterisation and synthesis of flavour esters. *International Journal of Biological Macromolecules* **50**:1238-1244.
- Fiddes MD, Le Gresley S, Parsons DG, Epe C, Coles GC, Stafford KA. 2005. Prevalence of the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) in England. *Veterinary Record* **157**:233-235.

- Fischer I, Haliński ŁP, Meissner W, Stepnowski P, Knitter M. 2017. Seasonal changes in the preen wax composition of the Herring gull *Larus argentatus*. *Chemoecology* **27**:127-139.
- Fischer I, Meissner W, Haliński ŁP, Stepnowski P. 2020. Preen oil chemical composition in herring gull *Larus argentatus*, common gull *Larus canus* and black-headed gull *Chroicocephalus ridibundus* confirms their status as two separate genera. *Biochemical Systematics and Ecology* 89 (e103987) DOI: 10.1016/j.bse.2019.103987.
- Forgács G, Alinezhad S, Mirabdollah A, Feuk-Lagerstedt E, Horváth IS. 2011. Biological treatment of chicken feather waste for improved biogas production. *Journal of Environmental Sciences* **23**:1747-1753.
- Fossum O, Jansson DS, Etterlin PE, Vågsholm I. 2009. Causes of mortality in laying hens in different housing systems in 2001 to 2004. *Acta Veterinaria Scandinavica* 51:3 DOI:10.1186/1751-0147-51-3.
- Franchi V, Aleuy OA, Tadich TA. 2016. Fur chewing and other abnormal repetitive behaviors in chinchillas (*Chinchilla lanigera*), under commercial fur-farming conditions. *Journal of Veterinary Behavior* **11**:60-64.
- Freinkel RK. 1972a. Lipogenesis during cornification of chicken skin in organ culture. *Journal of Investigative Dermatology* **59**:339-344.
- Freinkel RK. 1972b. Lipogenesis in epidermal differentiation of embryonic chicken skin. *Journal of Investigative Dermatology* **59**:332-338.
- Fukuzawa M, Yamaguchi R, Hide I, Chen Z, Hirai Y, Sugimoto A, Yasuhara T, Nakata Y. 2008. Possible involvement of long chain fatty acids in the spores of *Ganoderma lucidum* (Reishi Houshi) to its anti-tumor activity. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **31**:1933-1937.
- Fülöp A, Czirják GÁ, Pap PL, Vágási CI. 2016. Feather-degrading bacteria, uropygial gland size and feather quality in House Sparrows *Passer domesticus*. *Ibis* **158**:362-370.
- Gabirot, M., Buatois, B., Müller CT, Bonadonna F. 2018. Odour of King Penguin feathers analysed using direct thermal desorption discriminates between individuals but not sexes. *Ibis* **160**:379-389.
- Garner JP, Mason GJ, Smith, R. 2003a. Stereotypic route-tracing in experimentally caged songbirds correlates with general behavioural disinhibition. *Animal Behaviour* **66**:711-727.
- Garner JP, Meehan CL, Mench JA. 2003b. Stereotypies in caged parrots, schizophrenia and autism: evidence for a common mechanism. *Behavioural Brain Research* **145**:125-134.

- Gay M, Lempereur L, Francis F, Megido RC. 2020. Control of *Dermanyssus gallinae* (De Geer 1778) and other mites with volatile organic compounds, a review. *Parasitology* **147**:731-739.
- Genovart M, Negre N, Tavecchia G, Bistuer A, Parpal L, Oro D. 2010. The young, the weak and the sick: evidence of natural selection by predation. *PLoS One* 5 (e9774) DOI: 10.1371/journal.pone.0009774.
- Gentle MJ, Hughes BO, Fox A, Waddington D. 1997. Behavioural and anatomical consequences of two beak trimming methods in 1-and 10-d-old domestic chicks. *British Poultry Science* **38**:453-463.
- Giraudeau M, Duval C, Guillon N, Bretagnolle V, Gutierrez C, Heeb, P. 2010. Effects of access to preen gland secretions on mallard plumage. *Naturwissenschaften* **97**:577-581.
- Giraudeau M, Stikeleather R, McKenna J, Hutton P, McGraw KJ. 2017. Plumage micro-organisms and preen gland size in an urbanizing context. *Science of The Total Environment* **580**:425-429.
- Goldstein G, Flory KR, Browne BA, Majid S, Ichida JM, Burt EH Jr. 2004. Bacterial degradation of black and white feathers. *The Auk* **121**:656-659.
- Golüke S, Caspers BA. 2017. Sex-specific differences in preen gland size of Zebra Finches during the course of breeding. *The Auk: Ornithological Advances* **134**:821-831.
- González C, Yáñez JM, Tadich T. 2018. Determination of the Genetic Component of Fur-Chewing in Chinchillas (*Chinchilla lanigera*) and Its Economic Impact. *Animals* 8:144 DOI:10.3390/ani8090144.
- Goodman GB, Klingensmith MC, Bush SE, Clayton DH. 2020. The role of scratching in the control of ectoparasites on birds. *The Auk* **137**:1-9.
- Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, Flaws JA, Nadal A, Prins GS, Toppari J, Zoeller RT. 2015. Executive summary to EDC-2: the endocrine society's second scientific statement on endocrine-disrupting chemicals. *Endocrine Reviews* **36**:593-602.
- Gornatti-Churria CD, Crispo M, Shivaprasad HL, Uzal FA. 2018. Gangrenous dermatitis in chickens and turkeys. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **30**:188-196.
- Govindarajan B, Nagarajan R, Senthilkumar P, Thangamani R, Noorthen A. 2016. Field study of Chicken feather waste open dumping on road sides of Tuticorin city, Tamilnadu, India. *International Journal of Current Science Research* 2:960-966 DOI: 05.2016-31641248.

- Govinden G, Puchooa D. 2012. Isolation and characterization of feather degrading bacteria from Mauritian soil. *African Journal of Biotechnology* **11**:13591-13600.
- Green LE, Lewis K, Kimpton A, Nicol CJ. 2000. Cross-sectional study of the prevalence of feather pecking in laying hens in alternative systems and its associations with management and disease. *Veterinary Record* **147**:233-238.
- Grieves LA, Gloor GB, Bernards MA, MacDougall-Shackleton EA. 2019. Songbirds show odour-based discrimination of similarity and diversity at the major histocompatibility complex. *Animal Behaviour* **158**:131-138.
- Grindlinger HM. 1991. Compulsive feather picking in birds. *Archives of General Psychiatry* **48**:857-857.
- Grubb TC. 1972. Smell and foraging in shearwaters and petrels. *Nature* **237**:404-405.
- Grubb TC. 1979. Olfactory guidance of Leach's storm petrel to the breeding island. *The Wilson Bulletin* **91**:141-143.
- Gupta R, Ramnani P. 2006. Microbial keratinases and their prospective applications: an overview. *Applied Microbiology and Biotechnology* **70**:21-33.
- Gutiérrez AM, Montalti D, Reboredo GR, Salibián A, Catalá A. 1998. Lindane distribution and fatty acid profiles of uropygial gland and liver of *Columba livia* after pesticide treatment. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **59**:137-141.
- Hansen IA, Tang BK, Edkins E. 1969. Erythro-diols of wax from the uropygial gland of the turkey. *Journal of Lipid Research* **10**:267-270.
- Haribal M, Dhondt A, Rodriguez E. 2009. Diversity in chemical compositions of preen gland secretions of tropical birds. *Biochemical Systematics and Ecology* **37**:80-90.
- Harrison CJ. 1965. Allopreening as agonistic behaviour. *Behaviour* **24**:161-208.
- Harlander-Matauschek A, Rodenburg TB. 2011. Applying chemical stimuli on feathers to reduce feather pecking in laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* **132**:146-151.
- Hascik P, Kacaniova M, Mihok M, Pochop J, Benczova E, Hlinku TA. 2010. Performance of various broiler chicken hybrids fed with commercially produced feed mixtures. *International Journal of Poultry Science* **9**:1076-1082.
- Hayes TB, Collins A, Lee M, Mendoza M, Noriega N, Stuart AA, Vonk A. 2002. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **99**:5476-5480.

- Hirao A, Aoyama M, Sugita S. 2009. The role of uropygial gland on sexual behavior in domestic chicken *Gallus gallus domesticus*. Behavioural Processes **80**:115-120.
- Höglund J, Nordenfors H, Ugglå A. 1995. Prevalence of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, in different types of production systems for egg layers in Sweden. Poultry Science **74**:1793-1798.
- Horn TB, Körbes JH, Granich J, Senter M, Ferla NJ. 2016. Influence of laying hen systems on the mite fauna (Acari) community of commercial poultry farms in southern Brazil. Parasitology Research **115**:355-366.
- Huang ZR, Lin YK, Fang JY. 2009. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology. Molecules **14**:540-554.
- Huber-Eicher B, Wechsler B. 1997. Feather pecking in domestic chicks: its relation to dustbathing and foraging. Animal Behaviour **54**:757-768.
- Hutchison LV, Wenzel BM. 1980. Olfactory guidance in foraging by procellariiforms. The Condor **82**:314-319.
- Hwang YS, Schultz GW, Axelrod H, Kramer WL, Mulla MS. 1982. Ovipositional repellency of fatty acids and their derivatives against *Culex* and *Aedes* mosquitoes. Environmental Entomology **11**:223-226.
- Jacob J. 1975. TLC, GLC and MS of complex lipid mixtures from uropygial secretions. Journal of Chromatographic Science **13**:415-422.
- Jacob J. 1976a. Uropygial gland lipids of penguins. Biochemical Systematics and Ecology **4**:209-213.
- Jacob J. 1976b. Chemotaxonomical relationships between penguins and tubenoses. Biochemical Systematics and Ecology **4**:215-221.
- Jacob J. 1976c. Diester waxes containing 2-hydroxy fatty acids from the uropygial gland secretion of the white stork (*Ciconia ciconia*). Lipids **11**:816-818.
- Jacob J. 1977. Bürzeldrüsenlipide. Pages 373-438 in Herz W, Grisebach H, Kirby GW, editors. Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Volume 34. Springer, Vienna.
- Jacob J. 1978a. Hydrocarbon and multibranched ester waxes from the uropygial gland secretion of grebes (Podicipediformes). Journal of Lipid Research **19**:148-153.

- Jacob J. 1978b. Chemical composition of the preen gland secretions from some ciconiiform birds. *Lipids* **13**:274-282.
- Jacob J. 1978c. Chemotaxonomic relationships within the order Charadriiformes. *Biochemical Systematics and Ecology* **6**:347-350.
- Jacob J. 1978d. Uropygial gland secretions and feather waxes. Pages 165-211 in Brush AH, editor. *Chemical Zoology*. Volume 10. Academic Press, New York.
- Jacob J. 1982. The occurrence of two diester wax types in the uropygial gland secretion of the common kiwi (*Apteryx australis*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* **72**:161-164.
- Jacob J, Balthazart J, Schoffeniels E. 1979. Sex differences in the chemical composition of uropygial gland waxes in domestic ducks. *Biochemical Systematics and Ecology* **7**:149-153.
- Jacob J, Grimmer G. 1975. Composition of uropygial gland waxes in relation to the classification of some passerine birds. *Biochemical Systematics and Ecology* **3**:267-271.
- Jacob J, Glaser A. 1975. Chemotaxonomy of Anseriformes. *Biochemical Systematics and Ecology* **2**:215-219.
- Jacob J, Hoerschelmann H. 1985. Klassifizierung der Flamingos (Phoenicopteriformes) durch vergleichende Analyse von Bürzeldrüsensekreten. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* **23**:49-58.
- Jacob J, Plawer J, Rosenfeldt P. 1979. Gefiederwachskompositionen von Kranichen und Rallen. Beitrag zur Systematik der Gruiformes. *Journal für Ornithologie* **120**:54-63.
- Jacob J, Poltz J. 1974a. Zur systematischen Stellung der Papageien. I. Chemotaxonomische Untersuchungen am Wellensittich (*Melopsittacus undulatus* Shaw). *Journal für Ornithologie* **115**:454-459.
- Jacob J, Poltz J. 1974b. Bürzeldrüsensekrete von Spechten (Piciformes)/The Uropygial Gland Secretion of Woodpeckers (Piciformes). *Zeitschrift für Naturforschung C* **29**:236-238.
- Jacob J, Poltz J. 1974c. Chemical composition of uropygial gland secretions of owls. *Journal of Lipid Research* **15**:243-248.
- Jacob J, Poltz J. 1975a. Composition of uropygial gland secretions of birds of prey. *Lipids* **10**:1-8.
- Jacob J, Poltz J. 1975b. The chemical composition of uropygial gland secretions from Ralliformes. *Biochemical Systematics and Ecology* **3**:263-266.

- Jacob J, Raab G. 1996. 2,3-Dihydroxy Fatty Acids-Containing Waxes in Storks (Ciconiidae). *Zeitschrift für Naturforschung C* **51**:743-749.
- Jacob J, Ziswiler V. 1982. The uropygial gland. Pages 199-324 in Farner DS, King JR, Parkes KC, editors. *Avian biology*. Volume 6. Academic Press, New York.
- Jacob S, Immer A, Leclaire S, Parthuisot N, Ducamp C, Espinasse G, Heeb P. 2014. Uropygial gland size and composition varies according to experimentally modified microbiome in Great tits. *BMC evolutionary biology* **14**:134 DOI: 10.1186/1471-2148-14-134.
- Jawad HS, Idris LHB, Naji SA, Bakar MB, Kassim AB. 2015. Partial ablation of uropygial gland effect on production performance of Akar Putra chicken. *International Journal of Poultry Science* **14**:213.
- Joel D. 2006. Current animal models of obsessive compulsive disorder: a critical review. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* **30**:374-388.
- Johnston DW, 1988. In: Salibian A, Montalti D. 2009. Physiological and biochemical aspects of the avian uropygial gland. *Brazilian Journal of Biology* **69**:437-446.
- Jones RB, Carmichael NL. 1999. Domestic chicks are attracted to a familiar odorant in a novel test situation: a brief report. *Applied Animal Behaviour Science* **61**:351-356.
- Jones RB, Faure JM. 1982. Domestic chicks prefer familiar soiled substrate in an otherwise novel environment. *IRCS Medical Science* **10**:847.
- Kanakri K, Muhlhausler B, Carragher J, Gibson R, Barekatin R, Dekoning C, Drake K, Hughes R. 2018. Relationship between the fatty acid composition of uropygial gland secretion and blood of meat chickens receiving different dietary fats. *Animal Production Science* **58**:828-833.
- Karlsson AC, Jensen P, Elgland M, Laur K, Fyrner T, Konradsson P, Laska M. 2010. Red junglefowl have individual body odors. *Journal of Experimental Biology* **213**:1619-1624.
- Kaul S, Sumbali G. 1997. Keratinolysis by poultry farm soil fungi. *Mycopathologia* **139**:137-140.
- Kennedy RJ. 1971. Preen gland weights. *Ibis* **113**:369-372.
- Kenny E, Birkhead TR, Green JP. 2017. Allopreening in birds is associated with parental cooperation over offspring care and stable pair bonds across years. *Behavioral Ecology* **28**:1142-1148.

- Key TJ. 1995. Hormones and cancer in humans. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **333**:59-67.
- Kilpinen O, Roepstorff A, Permin A, Nørgaard-Nielsen G, Lawson LG, Simonsen HB. 2005. Influence of *Dermanyssus gallinae* and *Ascaridia galli* infections on behaviour and health of laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *British Poultry Science* **46**:26-34.
- Koenraad CJM, Dicke M. 2010. The role of volatiles in aggregation and host-seeking of the haematophagous poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Experimental and Applied Acarology* **50**:191-199.
- Kolattukudy PE. 2015. Wax Esters: Chemistry and Biosynthesis. Pages 159-183 in Apostolos Pappas, editor. *Lipids and Skin Health*. Springer, Cham.
- Kolattukudy PE, Bohnet S, Rogers L. 1987. Diesters of 3-hydroxy fatty acids produced by the uropygial glands of female mallards uniquely during the mating season. *Journal of Lipid Research* **28**:582-588.
- Kolattukudy PE, Sawaya WN. 1974. Age dependent structural changes in the diol esters of uropygial glands of chicken. *Lipids* **9**:290-292.
- Krausková L, Procházková J, Klašková M, Filipová L, Chaloupková R, Malý S, Damborský J, Heger, D. 2016. Suppression of protein inactivation during freezing by minimizing pH changes using ionic cryoprotectants. *International Journal of Pharmaceutics* **509**:41-49.
- Kuenzel WJ. 2007. Neurobiological basis of sensory perception: welfare implications of beak trimming. *Poultry Science* **86**:1273-1282.
- Lacher V, 1967. In: Cork A, Park KC. 1996. Identification of electrophysiologically-active compounds for the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, in human sweat extracts. *Medical and Veterinary Entomology* **10**:269-276.
- Lagerström MC, Hellström AR, Gloriam DE, Larsson TP, Schiöth HB, Fredriksson R. 2006. The G protein-coupled receptor subset of the chicken genome. *PLoS computational biology* **2**:e54 DOI: 10.1371/journal.pcbi.0020054.
- Lambertz C, Wuthijaree K, Gaulty M. 2018. Performance, behavior, and health of male broilers and laying hens of 2 dual-purpose chicken genotypes. *Poultry Science* **97**:3564-3576.
- Leclaire S, van Dongen WF, Voccia S, Merklings T, Ducamp C, Hatch SA, Blanchard P, Danchin É, Wagner RH. 2014. Preen secretions encode information on MHC similarity in certain sex-dyads in a monogamous seabird. *Scientific Reports* **4**:6920 DOI: 10.1038/srep06920.

- Leenstra F, Munnichs G, Beekman V, van den Heuvel-Vromans E, Aramyan L, Woelders H. 2011. Killing day-old chicks? Public opinion regarding potential alternatives. *Animal Welfare* **20**:37-45.
- Leeson S, Walsh T. 2004. Feathering in commercial poultry I. Feather growth and composition. *World's Poultry Science Journal* **60**:42-51.
- Lewis PD, Perry GC, Farmer LJ, Patterson RLS. 1997. Responses of two genotypes of chicken to the diets and stocking densities typical of UK and 'Label Rouge' production systems: I. Performance, behaviour and carcass composition. *Meat Science* **45**:501-516.
- Li G, et al. 2010. An outbreak of gangrenous dermatitis in commercial broiler chickens. *Avian Pathology* **39**:247-253.
- Lichovníková M, Jandásek J, Jůzl M, Dračková E. 2009. The meat quality of layer males from free range in comparison with fast growing chickens. *Czech Journal of Animal Science* **54**:490-497.
- Lillard DA, Toledo RT. 1976. Isolation and characterization of the lipids from the chicken preen gland. *Journal of Food Science* **41**:195-196.
- Liman N, Alan E, Beyaz F. 2009. Immunohistochemical demonstration of S-100 protein in the chicken uropygial gland during the post-hatching period. *Zoological Science* **26**:600-608.
- Livezey BC, Jacob J, Humphrey PS. 1986. Biochemical composition of secretions from uropygial glands of steamer-ducks. *Biochemical Systematics and Ecology* **14**:445-450.
- López-Perea JJ, Mateo R. 2019. Wax esters of uropygial gland secretion as biomarkers of endocrine disruption in birds exposed to treated sewage water. *Environmental Pollution* **250**:323-330.
- Lucas AM. 1968. Lipoid secretion in the avian epidermis. *The Anatomical Record* **160**:386-387.
- Lucas AM. 1970. Avian functional anatomic problems. *Federation Proceedings* **29**:1641-1648.
- Lucas FS, Broennimann O, Febbraro I, Heeb P. 2003. High diversity among feather-degrading bacteria from a dry meadow soil. *Microbial Ecology* **45**:282-290.
- Madec I, Gabarrou JF, Saffray D, Pageat P. 2008. Broilers (*Gallus gallus*) are less stressed if they can smell a mother odorant. *South African Journal of Animal Science* **38**:201-206.
- Magallanes S, García-Longoria L, López-Calderón C, Reviriego M, de Lope F, Møller AP, Marzal A. 2017. Uropygial gland volume and malaria infection are related to survival in migratory house martins. *Journal of Avian Biology* **48**:1355-1359.

- Magallanes S, López-Calderón C, Balbontín J, Møller AP, de Lope F, Marzal A. 2018. Reproductive success related to uropygial gland volume varies with abundance of conspecifics in barn swallows *Hirundo rustica*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **72**:183 DOI: 10.1007/s00265-018-2598-z.
- Magallanes S, Møller AP, García-Longoria L, de Lope F, Marzal A. 2016. Volume and antimicrobial activity of secretions of the uropygial gland are correlated with malaria infection in house sparrows. *Parasites & Vectors* **9**:232 DOI: 10.1186/s13071-016-1512-7.
- Mahr K, Hoi H. 2018. Red-legged partridges perceive the scent of predators and alarm scents of an avian heterospecific. *Animal Behaviour* **144**:109-114.
- Martín-Platero AM, Valdivia E, Ruíz-Rodríguez M, Soler JJ, Martín-Vivaldi M, Maqueda M, Martínez-Bueno M. 2006. Characterization of antimicrobial substances produced by *Enterococcus faecalis* MRR 10-3, isolated from the uropygial gland of the hoopoe (*Upupa epops*). *Applied and Environmental Microbiology* **72**:4245-4249.
- Martín-Vivaldi M, Peña A, Peralta-Sánchez JM, Sánchez L, Ananou S, Ruiz-Rodríguez M, Soler JJ. 2009. Antimicrobial chemicals in hoopoe preen secretions are produced by symbiotic bacteria. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **277**:123-130.
- Martín-Vivaldi M, Ruiz-Rodríguez M, Soler JJ, Peralta-Sánchez JM, Méndez M, Valdivia E, Martín-Platero AM, Martínez-Bueno, M. 2009. Seasonal, sexual and developmental differences in hoopoe *Upupa epops* preen gland morphology and secretions: evidence for a role of bacteria. *Journal of Avian Biology* **40**:191-205.
- Mason G, Rushen J. 2006. *Stereotypic Animal Behaviour: Fundamentals and Applications to Welfare*. 2nd ed. CABI Publishing, Oxfordshire.
- McKeegan DE, Savory CJ. 2001. Feather eating in individually caged hens which differ in their propensity to feather peck. *Applied Animal Behaviour Science* **73**:131-140.
- Meehan CL, Millam JR, Mench JA. 2003. Foraging opportunity and increased physical complexity both prevent and reduce psychogenic feather picking by young Amazon parrots. *Applied Animal Behaviour Science* **80**:71-85.
- Menon GK, Aggarwal SK, Lucas AM. 1981. Evidence for the holocrine nature of lipid secretion by avian epidermal cells: a histochemical and fine structural study of rictus and the uropygial gland. *Journal of Morphology* **167**:185-199.
- Menon GK, Menon J. 2000. Avian epidermal lipids: functional considerations and relationship to feathering. *American Zoologist* **40**:540-552.

- Michaelakis A, Mihou AP, Koliopoulos G, Couladouros EA. 2007. Attract-and-kill strategy. Laboratory studies on hatched larvae of *Culex pipiens*. *Pest Management Science* **63**:954-959.
- Mironov SV. 2013. *Allopsoroptoides galli* ng, n. sp., a new genus and species of feather mites (Acari: Analgoidea: Psoroptoididae) causing mange in commercially raised domestic chicken in Brazil. *Systematic Parasitology* **85**:201-212.
- Møller AP, Czirjak GÁ, Heeb P. 2009. Feather micro-organisms and uropygial antimicrobial defences in a colonial passerine bird. *Functional Ecology* **23**:1097-1102.
- Møller AP, Erritzøe J, Tøttrup Nielsen J. 2010. Predators and microorganisms of prey: goshawks prefer prey with small uropygial glands. *Functional Ecology* **24**:608-613.
- Møller AP, Laursen, K. 2019. Function of the uropygial gland in eiders (*Somateria mollissima*). *Avian Research* 10:24 DOI: 10.1186/s40657-019-0163-8.
- Møller AP, Peralta-Sánchez JM, Nielsen JT, López-Hernández E, Soler JJ. 2012. Goshawk prey have more bacteria than non-prey. *Journal of Animal Ecology* **81**:403-410.
- Montalti D, Salibián A. 2000. Uropygial gland size and avian habitat. *Ornitologia Neotropical* **11**:297-306.
- Moreno-Rueda G. 2017. Preen oil and bird fitness: a critical review of the evidence. *Biological Reviews* **92**:2131-2143.
- Moro CV, De Luna CJ, Tod A, Guy JH, Sparagano OA, Zenner L. 2009. The poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*): A potential vector of pathogenic agents. *Experimental and Applied Acarology* **48**:93-104.
- Moyer BR, Rock AN, Clayton DH. 2003. Experimental test of the importance of preen oil in rock doves (*Columba livia*). *The Auk* **120**:490-496.
- Mullens BA, Owen JP, Kuney DR, Szijj CE, Klingler KA. 2009. Temporal changes in distribution, prevalence and intensity of northern fowl mite (*Ornithonyssus sylviarum*) parasitism in commercial caged laying hens, with a comprehensive economic analysis of parasite impact. *Veterinary Parasitology* **160**:116-133.
- Murillo AC, Mullens BA. 2016. Diversity and prevalence of ectoparasites on backyard chicken flocks in California. *Journal of Medical Entomology* **53**:707-711.
- Murphy LB. 1977. Responses of domestic fowl to novel food and objects. *Applied Animal Ethology* **3**:335-349.

- Muza MM, Burt EH, Ichida JM. 2000. Distribution of bacteria on feathers of some eastern North American birds. *The Wilson Journal of Ornithology* **112**:432-436.
- Navarro-Llopis V, Primo J, Vacas S. 2013. Efficacy of attract-and-kill devices for the control of *Ceratitis capitata*. *Pest Management Science* **69**:478-482.
- Nicolaides N, Fu HC, Rice GR. 1968. The skin surface lipids of man compared with those of eighteen species of animals. *Journal of Investigative Dermatology* **51**:83-89.
- Nye PA. 1964. Heat loss in wet ducklings and chicks. *Ibis* **106**:189-197.
- Olsson IAS, Keeling LJ. 2005. Why in earth? Dustbathing behaviour in jungle and domestic fowl reviewed from a Tinbergian and animal welfare perspective. *Applied Animal Behaviour Science* **93**:259-282.
- Opel H. 1986. Surface analgesic and antiphlogistic. The United States Patent and Trademark Office, USA. US 4579868 A.
- Pageat P. 2010. Avian appeasing pheromones to decrease stress, anxiety and aggressiveness. The United States Patent and Trademark Office, USA. US 7723388 B2.
- Pan PR, Dilworth BC, Day EJ., Chen TC. 1979. Effect of season of the year, sex, and dietary fats on broiler performance, abdominal fat, and preen gland secretion. *Poultry Science* **58**:1564-1574.
- Pap PL, Vágási CI, Osváth G, Mureşan C, Barta Z. 2010. Seasonality in the uropygial gland size and feather mite abundance in house sparrows *Passer domesticus*: natural covariation and an experiment. *Journal of Avian Biology* **41**: 653-661.
- Paris, P. 1913. In: Pan PR, Dilworth BC, Day EJ, Chen TC. 1979. Effect of season of the year, sex, and dietary fats on broiler performance, abdominal fat, and preen gland secretion. *Poultry science* **58**:1564-1574.
- Pass DA. 1989. The pathology of the avian integument: a review. *Avian Pathology* **18**:1-72.
- Piersma T, Dekker M, Damsté JS. 1999. An avian equivalent of make-up?. *Ecology Letters* **2**:201-203.
- Poltz J, Jacob J. 1974. Waxes of the uropygial gland secretion of birds of the genus *Parus*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism* **360**:348-356.
- Poltz J, Jacob J. 1975. The uropygial gland secretions of birds of the family sylviiidae. *Biochemical Systematics and Ecology* **3**:57-62.

- Prescott NB, Wathes CM, Jarvis JR. 2003. Light, vision and the welfare of poultry. *Animal Welfare* **12**:269-288.
- Quay WB. 1967. Comparative survey of the anal glands of birds. *The Auk* **84**:379-389.
- Radford AN, Du Plessis MA. 2006. Dual function of allopreening in the cooperatively breeding green woodhoopoe, *Phoeniculus purpureus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **61**:221-230.
- Rao CV, Newmark HL, Reddy BS. 1998. Chemopreventive effect of squalene on colon cancer. *Carcinogenesis* **19**:287-290.
- Reneerkens J, Korsten P. 2004. Plumage reflectance is not affected by preen wax composition in red knots *Calidris canutus*. *Journal of Avian Biology* **35**:405-409.
- Reneerkens J, Piersma T, Damsté JSS. 2002. Sandpipers (Scolopacidae) switch from monoester to diester preen waxes during courtship and incubation, but why? *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **269**:2135-2139.
- Reneerkens J, Piersma T, Damsté JSS. 2005. Switch to diester preen waxes may reduce avian nest predation by mammalian predators using olfactory cues. *Journal of Experimental Biology* **208**:4199-4202.
- Reneerkens J, Versteegh MA, Schneider AM, Piersma T, Burt EH. 2008. Seasonally changing preen-wax composition: red knots' (*Calidris canutus*) flexible defense against feather-degrading bacteria. *The Auk* **125**:285-290.
- Respeggt GmbH. 2020. Contributing to more responsibility: Better egg products. Respeggt GmbH, Cologne. Available from <https://respeggt.com/en/the-products/> (accessed April 2020).
- Ricke SC, editor. 2017. Achieving sustainable production of poultry meat. Volume 1: Safety, quality and sustainability. Burleigh Dodds Science Publishing, Cambridge.
- Rijke AM. 1987. The water repellency of water-bird feathers. *The Auk* **104**:140-142.
- Rosenberg HR. 1953. The site and nature of pro vitamin D in birds. *Archives of Biochemistry* **42**:7-11.
- Roudi R, Syn NL, Roudbary M. 2017. Antimicrobial peptides as biologic and immunotherapeutic agents against cancer: A comprehensive overview. *Frontiers in Immunology* **8**:1320 DOI: 10.3389/fimmu.2017.01320.
- Ruiz-Rodríguez M, Martínez-Bueno M, Martín-Vivaldi M, Valdivia E, Soler JJ. 2013. Bacteriocins with a broader antimicrobial spectrum prevail in enterococcal symbionts isolated from the hoopoe's uropygial gland. *FEMS Microbiology Ecology* **85**:495-502.

- Ruiz-Rodríguez M, Tomas G, Martín-Gálvez D, Ruiz-Castellano C, Soler JJ. 2015. Bacteria and the evolution of honest signals. The case of ornamental throat feathers in spotless starlings. *Functional Ecology* **29**:701-709.
- Ruiz-Rodríguez M, Valdivia E, Martín-Vivaldi M, Martín-Platero AM, Martínez-Bueno M, Méndez M, Peralta-Sánchez JM, Soler JJ. 2012. Antimicrobial activity and genetic profile of enterococci isolated from hoopoes uropygial gland. *PLoS One* **7** (e41843) DOI: 10.1371/journal.pone.0041843.
- Ruiz-Rodríguez M, Valdivia E, Soler JJ, Martín-Vivaldi M, Martín-Platero AM, Martínez-Bueno M. 2009. Symbiotic bacteria living in the hoopoe's uropygial gland prevent feather degradation. *Journal of Experimental Biology* **212**:3621-3626.
- Russell CB, Hunter FF. 2005. Attraction of *Culex pipiens/restuans* (Diptera: Culicidae) mosquitoes to bird uropygial gland odors at two elevations in the Niagara region of Ontario. *Journal of Medical Entomology* **42**:301-305.
- Russell WC, Choules GL, Gauthier DA. 1981. Detergents and waterfowl. *The Journal of Zoo Animal Medicine* **12**:10-13.
- Saha S, Dhanasekaran D. 2010. Isolation and screening of keratinolytic actinobacteria from keratin waste dumped soil in Tiruchirappalli and Nammakkal, Tamil Nadu, India. *Current Research Journal of Biological Sciences* **2**:124-131.
- Saito K, Gamo M. 1968. The distribution of unusual fatty acids in preen gland lipids. *The Journal of Biochemistry* **64**:557-559.
- Salminen E, Einola J, Rintala J. 2003. The methane production of poultry slaughtering residues and effects of pre-treatments on the methane production of poultry feather. *Environmental Technology* **24**:1079-1086.
- Sandilands V, Powell K, Keeling L, Savory CJ. 2004. Preen gland function in layer fowls: factors affecting preen oil fatty acid composition. *British Poultry Science* **45**:109-115.
- Saucedo-Rivalcoba V, Martínez-Hernández AL, Martínez-Barrera G, Velasco-Santos C, Castaño VM. 2011. (Chicken feathers keratin)/polyurethane membranes. *Applied Physics A* **104**:219-228
- Schumacher S. 1919. In: Dutta S, Das SK, Bhattacharyya SP. 1997. Composition of lipids from the glands of the external ear canal of the adult chicken. *Folia Biologica* **45**:3-4.
- Shawkey MD, Pillai SR, Hill GE. 2003. Chemical warfare? Effects of uropygial oil on feather-degrading bacteria. *Journal of Avian Biology* **34**:345-349.

- Shih JC. 1993. Recent development in poultry waste digestion and feather utilization—a review. *Poultry Science* **72**:1617-1620.
- Siddiqui MF, Patil MS, Khan KM, Khan LA, Mafsu AM. 2009. Sudden Death Syndrome: an Overview. *Veterinary World* **2**:444-447.
- Simmons KEL. 1961. Problems of head-scratching in birds. *Ibis* **103**:37-49.
- Sinkiewicz I, Śliwińska A, Staroszczyk H, Kołodziejka I. 2017. Alternative methods of preparation of soluble keratin from chicken feathers. *Waste and Biomass Valorization* **8**:1043-1048.
- Skinner WA, Tong H, Maibach H, Khan AA, Pearson T. 1965. Repellency of skin-surface lipids of humans to mosquitoes. *Science* **149**:305-306.
- Smith TJ. 2000. Squalene: potential chemopreventive agent. *Expert Opinion on Investigational Drugs* **9**:1841-1848.
- Smith VS, Page RD, Johnson KP. 2004. Data incongruence and the problem of avian louse phylogeny. *Zoologica Scripta* **33**:239-259.
- Soini HA, Schrock SE, Bruce KE, Wiesler D, Ketterson ED, Novotny MV. 2007. Seasonal variation in volatile compound profiles of preen gland secretions of the dark-eyed junco (*Junco hyemalis*). *Journal of Chemical Ecology* **33**:183-198.
- Somes JR. 1991. Recessive inherited doubling of the chicken's uropygial gland papilla. *The Journal of Heredity* **82**:69-71.
- Spanoudis CG, Andreadis SS, Bray DP, Savopoulou-Soultani M, Ignell R. 2020. Behavioural response of the house mosquitoes *Culex quinquefasciatus* and *Culex pipiens molestus* to avian odours and its reliance on carbon dioxide. *Medical and Veterinary Entomology* **34**:129-137.
- Sparagano O, et al. 2009. Prevalence and key figures for the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* infections in poultry farm systems. *Experimental & Applied Acarology* **48**:3-10.
- Sparagano OAE, George DR, Harrington DWJ, Giangaspero A. 2014. Significance and control of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Annual Review of Entomology* **59**:447-466.
- Steiger SS, Fidler AE, Valcu M, Kempenaers B. 2008. Avian olfactory receptor gene repertoires: evidence for a well-developed sense of smell in birds? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **275**:2309-2317.
- Stettenheim PR. 2000. The integumentary morphology of modern birds—an overview. *American Zoologist* **40**:461-477.

- Tona K, Onagbesan OM, Kamers B, Everaert N, Bruggeman V, Decuypere E. 2010. Comparison of Cobb and Ross strains in embryo physiology and chick juvenile growth. *Poultry Science* **89**:1677-1683.
- Tuttle EM, Sebastian PJ, Posto AL, Soini HA, Novotny MV, Gonser RA. 2014. Variation in preen oil composition pertaining to season, sex, and genotype in the polymorphic white-throated sparrow. *Journal of Chemical Ecology* **40**:1025-1038.
- Uva B, Mandich A, Vallarino M. 1983. The site of 7-dehydrocholesterol ultraviolet photolysis in domestic fowls. *Acta Histochemica* **73**:175-180.
- Uva BM, Ghiani P, Deplano S, Mandich A, Vaccari L, Vallarino M. 1978. Occurrence of 7-dehydrocholesterol in the uropygial gland of domestic fowls. *Acta Histochemica* **62**:237-243.
- van Dijk A, Veldhuizen EJ, van Asten AJ, Haagsman HP. 2005. CMAP27, a novel chicken cathelicidin-like antimicrobial protein. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **106**:321-327.
- van Liere DW, Aggrey SE, Brouns FM, Wiepkema PR. 1991. Oiling behaviour and the effect of lipids on dustbathing behaviour in laying hens *Gallus gallus domesticus*. *Behavioural Processes* **24**:71-81.
- van Rhijn JG. 1977. The patterning of preening and other comfort behaviour in a herring gull. *Behaviour* **63**:71-109.
- Verea C, Vitelli-Flores J, Isturiz T, Rodríguez-Lemoine V, Bosque C. 2017. The effect of uropygial gland secretions of spectacled thrushes (*Turdus nudigenis*) on feather degradation and bacterial growth in vitro. *Journal of Ornithology* **158**:1035-1043.
- Vezzoli G, Mullens BA, Mench JA. 2015. Relationships between beak condition, preening behavior and ectoparasite infestation levels in laying hens. *Poultry Science* **94**:1997-2007.
- Weissmann A, Reitemeier S, Hahn A, Gottschalk J, Einspanier A. 2013. Sexing domestic chicken before hatch: A new method for in ovo gender identification. *Theriogenology* **80**:199-205.
- Wertz PW, Stover PM, Downing DT. 1986. A survey of polar and nonpolar lipids from epidermis and epidermal appendages of the chicken (*Gallus domesticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology. B, Comparative Biochemistry* **84**:203-206.
- Williams CM, Richter CS, Mackenzie JM, Shih JC. 1990. Isolation, identification, and characterization of a feather-degrading bacterium. *Applied and Environmental Microbiology* **56**:1509-1515.

- Williams CR, Kokkinn MJ, Smith BP. 2003. Intraspecific variation in odor-mediated host preference of the mosquito *Culex annulirostris*. *Journal of Chemical Ecology* **29**:1889-1903.
- Willoughby DH, Bickford AA, Cooper GL, Charlton BR. 1996. Periodic recurrence of gangrenous dermatitis associated with *Clostridium septicum* in a broiler chicken operation. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **8**:259-261.
- Würdinger I. 1982. In: Bonadonna F, Hesters F, Jouventin P. 2003. Scent of a nest: discrimination of own-nest odours in Antarctic prions, *Pachyptila desolata*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **54**:174-178.
- Xu Z, et al. 2016. Dandruff is associated with the conjoined interactions between host and microorganisms. *Scientific Reports* 6:24877 DOI: 10.1038/srep24877.
- Yoshimura Y, Tsuchida M, Nakamura J, Saito T, Isobe N, Iijima N. 2007. Preparation and application for immunocytochemistry of antibody to gallinacin-3, an antimicrobial peptide, in chicken. *The Journal of Poultry Science* **44**:433-438.
- Zhang JX, Sun L, Zuo MX. 2009. Uropygial gland volatiles may code for olfactory information about sex, individual, and species in Bengalese finches *Lonchura striata*. *Current Zoology* **55**:357-365.
- Zhang JX, Wei W, Zhang JH, Yang WH. 2010. Uropygial gland-secreted alkanols contribute to olfactory sex signals in budgerigars. *Chemical Senses* **35**:375-382.

9 SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY

Příloha č. 1 – Přehled dosud dokumentovaného chemického složení uropygiálních sekretů kura domácího (+++ značí vysoké koncentrace, ++ střední, + látka zastoupena pouze v malých množstvích).

Název sloučeniny	Alternativní název, počet uhlíků a dvojných vazeb u MK	Klasifikace sloučeniny	Zastoupení v sekretech	Faktory, které ovlivňují koncentraci (pokud známy)	Funkce, poznámky	Reference
diestery erythro-alkan-2,3-diolů	uropygioly	polární lipidy, diestery vosků	+++	věk	promazávání, antifungální, antimikrobiální	Hansen et al. 1969
diestery threo-alkan-2,3-diolů	uropygioly	polární lipidy, diestery vosků	+++	věk	promazávání, antifungální, antimikrobiální	Hansen et al. 1969
diestery vosků	uropygioly	polární lipidy, diestery vosků	+++	věk	směs obou izomerů, u kuřat zhruba 1:1	Jacob & Ziswiler 1982
triglyceridy	triacylglyceroly	jednoduché lipidy	++		produkt rozpadu buněk	Saito & Gamo 1968
fosfatidylethanolamin	kefalin	složené lipidy, fosfolipidy glycerofosfolipidy	+		součást buněčných membrán, produkt rozpadu buněk	Saito & Gamo 1968
fosfatidylcholin	lecithin	složené lipidy, fosfolipidy glycerofosfolipidy	+		součást buněčných membrán, produkt rozpadu buněk	Saito & Gamo 1968

Název sloučeniny	Alternativní název, počet uhlíků a dvojných vazeb u MK	Klasifikace sloučeniny	Zastoupení v sekretech	Faktory, které ovlivňují koncentraci (pokud známy)	Funkce, poznámky	Reference
cholesterol		steroly	+		biosyntéza steroidních látek	Uva et al. 1978
7-dehydrocholesterol		steroly	+		prekurzor vitamínu D ₃	Uva et al. 1978
vitamin D3		sekosteroidy, vitaminy rozpustné v tucích	+		Rosenberg (1953) tento vitamin v sekretu neprokázal	Uva et al. 1983
estery sterolů		steridy	+			Wertz et al. 1986
skvalen		uhlovodíky	+		podpora normálního mikrobiomu kůže	Bandyopadhyay & Bhattacharyya 1996
S-100 protein		proteiny, proteiny vázající Ca ²⁺	+		antimikrobiální	Liman et al. 2009
katelicidin CMAP27	chicken cathelicidin myeloid antimicrobial peptide 27	peptidy, antimikrobiální peptidy, katelcidiny	+		antimikrobiální	Van Dijk et al. 2005
galinacin 3	gallinacin-3	peptidy, antimikrobiální peptidy, β-defenziny	+		antimikrobiální	Yoshimura et al. 2007
voda		anorganické látky	+		produkt rozpadu buněk	Cater & Lawrie 1950
anorganické soli		anorganické látky	+		produkt rozpadu buněk	Cater & Lawrie 1950

Název sloučeniny	Alternativní název, počet uhlíků a dvojných vazeb u MK	Klasifikace sloučeniny	Zastoupení v sekretech	Faktory, které ovlivňují koncentraci (pokud známy)	Funkce, poznámky	Reference
nasyčené mastné kyseliny		mastné kyseliny	+++	věk, individualita jedince, pohlaví, roční období	součást lipidů, chemická komunikace, zastoupení jednotlivých MK charakteristické pro každého jedince	Karlsson et al. 2010
omega-9 mononenasycené		nenasycené mastné kyseliny	+	pohlaví		Kanakri et al. 2018
omega-7 mononenasycené		nenasycené mastné kyseliny	+	pohlaví, dieta		Kanakri et al. 2018
omega-3 polynenasycené		polynenasycené mastné kyseliny	+	pohlaví		Kanakri et al. 2018
omega-6 polynenasycené		polynenasycené mastné kyseliny	+			Kanakri et al. 2018
oktanová k.	kaprylová C8:0	nasyčené mastné kyseliny	+			Kanakri et al. 2018
nonanová k.	pelargonová C9:0	nasyčené mastné kyseliny	+			Kanakri et al. 2018
dekanová k.	kaprinová C10:0	nasyčené mastné kyseliny	+	pohlaví		Kanakri et al. 2018
undekanová k.	undecylová C11:0	nasyčené mastné kyseliny	+			Kanakri et al. 2018
dodekanová k.	laurová C12:0	nasyčené mastné kyseliny	+			Kanakri et al. 2018
tridekanová k.	tridecylová C13:0	nasyčené mastné kyseliny	+			Kanakri et al. 2018

Název sloučeniny	Alternativní název, počet uhlíků a dvojných vazeb u MK	Klasifikace sloučeniny	Zastoupení v sekretech	Faktory, které ovlivňují koncentraci (pokud známy)	Funkce, poznámky	Reference
tetradekanová k.	myristová C14:0	nasyčené mastné kyseliny	++			Kanakri et al. 2018
pentadekanová k.	pentadecylová C15:0	nasyčené mastné kyseliny	+			Kanakri et al. 2018
hexadekanová k.	palmitová C16:0	nasyčené mastné kyseliny	++	dieta		Kanakri et al. 2018
heptadekanová k.	heptadecylová C17:0	nasyčené mastné kyseliny	+	dieta		Kanakri et al. 2018
oktadekanová k.	stearová C18:0	nasyčené mastné kyseliny	++	pohlaví		Kanakri et al. 2018
nonadekanová k.	nonadecylová C19:0	nasyčené mastné kyseliny	+			Kanakri et al. 2018
ikosanová k.	arachidová C20:0	nasyčené mastné kyseliny	++			Kanakri et al. 2018
heneikosanová k.	heneikosylová C21:0	nasyčené mastné kyseliny	+			Kanakri et al. 2018
dokosanová k.	behenová C22:0	nasyčené mastné kyseliny	+			Kanakri et al. 2018
myristoolejová k.	C14:1	nenasyčené mastné kyseliny	+		součást triacylglycerolů (TAG)	Saito & Gamo 1968
palmitoolejová k.	C16:1	nenasyčené mastné kyseliny	+		součást fosfolipidů, TAG	Saito & Gamo 1968
olejová k.	C18:1	nenasyčené mastné kyseliny	+		součást fosfolipidů, TAG	Saito & Gamo 1968
linolová k.	C18:2	polynenasycené mastné kyseliny	+		součást fosfolipidů, TAG	Saito & Gamo 1968

Příloha č. 2 – Procentuální zastoupení jednotlivých mastných kyselin detekovaných v uropygiálních sekretech genotypů kura domácího Ross 308 a ISA Dual.

	Ross 308 (% zastoupení)	ISA Dual (% zastoupení)	Poznámky
nasycené MK			
oktadekanová (stearová) C18:0	20,91	24,77	
hexadekanová (palmitová) C16:0	13,66	11,60	
tetradekanová (myristová) C14:0	9,39	6,94	
heptadekanová (heptadecylová) C17:0	5,97	4,53	
ikosanová (arachidová) C20:0	5,68	4,67	
dodekanová (laurová) C12:0	4,83	3,59	
dekanová (kaprinová) C10:0	3,04	1,74	
hexanová (kapronová) C6:0	1,99	1,09	detekována poprvé
dokosanová (behenová) C22:0	1,85	1,64	
trikosanová C23:0	1,62	2,27	běžně se nevyskytuje, Apandi & Edwards 1964 ji zaznamenali pouze při chovu za specifických podmínek
butanová (máselná) C4:0	1,08	0,53	detekována poprvé
pentadekanová (pentadecylová) C15:0	1,03	0,79	
tridekanová (tridecylová) C13:0	0,89	0,56	
undekanová (undecylová) C11:0	0,67	0,38	
oktanová (kaprylová) C8:0	0,45	0,25	
tetrakosanová (lignocerová) C24:0	0,21	0,29	detekována poprvé, Apandi & Edwards 1964 ji zaznamenali pouze při chovu za specifických podmínek, a to pouze ve formě s rozvětveným řetězcem
heneikosanová (heneikosylová) C21:0	0,10	0,49	

	Ross 308 (% zastoupení)	ISA Dual (% zastoupení)	Poznámky
mononenasycené MK			
cis-oktadec-9-enová (olejová) C18:1B	6,47	9,15	
cis-hexadec-9-enová (palmitoolejová) C16:1	0,57	0,89	
cis-dokos-13-enová (eruková) C22:1	0,51	0,29	detekována poprvé
cis-tetrakos-15-enová (nervonová) C24:1	0,20	0,16	detekována poprvé
trans-oktadec-9-enová (elaidová) C18:1A	0,01	0,06	detekována poprvé
cis-pentadec-10-enová C15:1	0,00	0,04	detekována poprvé
cis-tetradec-9-enová (myristoolejová) C14:1	0,00	0,02	
polynenasycené NK			
trans-okta-9,12-dienová (linoelaidová) C18:2A	6,79	9,31	detekována poprvé
cis-oktadeka-9,12-dienová (linolová) C18:2B	6,07	8,37	
cis-eikosa-11,14-dienová C20:2	1,53	1,41	detekována poprvé
cis-eikosa-11,14,17-trienová C20:3B	1,29	0,98	detekována poprvé
cis-dokosa-4,7,10,13,16,19-hexaenová C22:6	0,93	0,70	detekována poprvé
cis-oktadeka-9,12,15-trienová (alfa-linolenová) C18:3B + cis-eikosa-11-enová C20:1	0,70	0,96	Pan et al. 1979 detekovali kyselinu linolenovou. Není jasné, zda se jedná o alfa nebo gama-linolenovou kyselinu.

	Ross 308 (% zastoupení)	ISA Dual (% zastoupení)	Poznámky
polynenasycené NK			
cis-oktadeka-6,9,12-trienová (gama-linolenová) C18:3A	0,61	0,39	Pan et al. 1979 detekovali kyselinu linolenovou. Není jasné, zda se jedná o alfa nebo gama-linolenovou kyselinu.
cis-eikosa-8,11,14-trienová C20:3	0,54	0,62	detekována poprvé
cis-dokosa-13,16-dienová C22:2 + cis-eikosa-5,8,11,14,17-pentaenová C20:5	0,40	0,49	detekována poprvé
cis-eikosa-5,8,11,14-tetraenová (arachidonová) C20:4	0,00	0,01	detekována poprvé

Příloha č. 3 – Přehled těkavých organických sloučenin detekovaných v uropygiálním sekretu kura domácího.

Pořadí sloučeniny	Název sloučeniny	Relativní koncentrace (%)	Retenční čas Rt (min.)	Retenční index I _x	Skupina sloučenin	Poznámky
1	Hexanová kyselina	12,46	21,295	977	karboxylová kyselina	
2	Hexan, 2,2,5-trimethyl-	6,77	23,375	1069	uhlovodík	možný kontaminant
3	n-hexan	6,32	10,317	598	uhlovodík	možný kontaminant
4	Dekan, 3,8-dimethyl-	5,13	24,497	1121	uhlovodík	možný kontaminant, prokázán v peritučníka patagonského (<i>Aptenodytes patagonicus</i> Miller, 1778; Gabirot et al. 2018)
5	Dekan, 2,3,4-trimethyl-	5,11	24,16	1105	uhlovodík	možný kontaminant
6	Pent-1-en-3-ol	4,58	13,035	685	alkohol	
7	Undekan	4,55	24,053	1100	uhlovodík	možný kontaminant, prokázán v uropygiálním sekretu strnadce zimního (<i>Junco hyemalis</i> (Linnaeus, 1758); Soini et al. 2007) a kura domácího (Williams et al. 2003)
8	Benzen, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-	3,58	27,647	1276	uhlovodík	možný kontaminant, uhlovodíky odvozené od benzenu prokázány v sekretu kura domácího např. 1,3,5-trimethylbenzen a 1,2,4-trimethylbenzen (Bernier et al. 2008)
9	Heptan, 3-ethyl-3-methyl-	3,55	23,243	1063	uhlovodík	možný kontaminant

Pořadí sloučeniny	Název sloučeniny	Relativní koncentrace (%)	Retenční čas Rt (min.)	Retenční index I _x	Skupina sloučenin	Poznámky
10	Butanal, 3-methyl-	3,50	12,185	658	aldehyd	
11	Benzen	3,07	12,575	670	uhlovodík	možný kontaminant
12	Undekan, 2-methyl-	2,89	24,653	1129	uhlovodík	možný kontaminant
13	Hexanal	2,63	16,712	803	aldehyd	
14	Dodekan, 2,2,11,11-tetramethyl-	2,37	22,375	1024	uhlovodík	možný kontaminant
15	Pentan-1-ol	1,75	15,648	768	alkohol	
16	2,2'-Bifuran, octahydro-	1,53	23,91	1093	furany	možný kontaminant, výskyt furanů byly prokázán v peří tučňáka patagonského Gabirot et al. 2018) i kura domácího (Bernier et al. 2008)
17	2(3H)-Furanon, dihydro-4-methyl-	1,46	20,147	930	furany	
18	Pentan-3-on	1,21	13,42	697	keton	
19	Heptan, 3,3,4-trimethyl-	1,20	22,358	1023	uhlovodík	možný kontaminant
20	Oktan-3-on	1,14	21,587	989	keton	
21	Benzaldehyd	1,13	21,665	992	aldehyd	
22	Linalool	1,11	24,27	1110	alkohol	
23	Heptan-1-ol	1,09	21,183	973	alkohol	
24	Kyselina 2-methylbutanová	1,03	18,038	851	karboxylová kyselina	
25	Hexan-1-ol	0,96	18,6	871	alkohol	
26	Pentanal	0,94	13,503	700	aldehyd	

Pořadí sloučeniny	Název sloučeniny	Relativní koncentrace (%)	Retenční čas Rt (min.)	Retenční index I _x	Skupina sloučenin	Poznámky
27	Hept-2-en-1-ol, (E)-	0,93	21,033	966	alkohol	
28	Kyselina 3-methylbutanová	0,90	17,758	840	karboxylová kyselina	
29	Dekan, 2,2-dimethyl-	0,89	22,62	1035	uhlovodík	možný kontaminant
30	Nonan-2-on	0,86	24,003	1097	keton	
31	Dodekan	0,72	26,113	1200	uhlovodík	možný kontaminant
32	Heptan-2-on	0,72	19,212	893	keton	
33	Heptan, 2,4-dimethyl-	0,70	17,275	823	uhlovodík	možný kontaminant
34	Heptanal	0,69	19,567	906	aldehyd	
35	Nonan	0,65	19,378	899	uhlovodík	možný kontaminant, prokázán v peří tučňáka patagonského (Gabirot et al. 2018)
36	Butanal, 2-methyl-	0,56	12,51	668	aldehyd	
37	2(3H)-Furanon, 5-hexyldihydro	0,51	30,375	1414	furan, keton	
38	Okt-1-en-3-ol	0,49	21,442	983	alkohol	
39	Betain	0,49	6,987	492	derivát aminokyseliny	
40	Nonan, 2-methyl-	0,46	21,028	966	uhlovodík	možný kontaminant
41	Pyridin	0,45	15,305	758	heterocyklická sloučenina	
42	Dekan, 4-methyl-	0,45	22,028	1008	uhlovodík	možný kontaminant

Pořadí sloučeniny	Název sloučeniny	Relativní koncentrace (%)	Retenční čas Rt (min.)	Retenční index I _x	Skupina sloučenin	Poznámky
43	Undekan, 3,6-dimethyl-	0,40	26,353	1212	uhlovodík	možný kontaminant, dimethyl undekan prokázán v peří tučňáka patagonského (Gabirot et al. 2018)
44	Dekan	0,37	21,848	1000	uhlovodík	možný kontaminant, prokázán v peří buřňáka holubiho (<i>Pachyptila desolata</i> Gmelin, 1789; Bonadonna et al. 2007) a kura domácího (Williams et al. 2003)
45	1-Butanol, 3-methyl-	0,33	14,685	738	alkohol	
46	Acetaldehyd	0,31	6,6	480	aldehyd	
47	2,4-Dimethylhept-1-en	0,30	17,87	844	uhlovodík	možný kontaminant
48	Kyselina butanová	0,27	16,21	786	karboxylová kyselina	
49	Nonan, 5-(1-methylpropyl)-	0,25	25,217	1156	uhlovodík	možný kontaminant
50	Acetoin	0,25	13,973	715	keton, alkohol	
51	Tetradekan, 5-methyl-	0,23	27,363	1262	uhlovodík	možný kontaminant
52	Dodekan, 2,6,11-trimethyl-	0,22	28,587	1323	uhlovodík	možný kontaminant
53	Undekanal	0,22	28,6	1324	aldehyd	
54	Okt-3-en-2-on	0,21	22,905	1048	keton	
55	Propanal	0,21	7,91	522	aldehyd	

Pořadí sloučeniny	Název sloučeniny	Relativní koncentrace (%)	Retenční čas Rt (min.)	Retenční index I _x	Skupina sloučenin	Poznámky
56	Dodekan, 4-methyl-	0,18	26,543	1221	uhlovodík	možný kontaminant
57	Diethylester kyseliny uhličitě	0,16	11,012	621	ester	
58	Tridekan	0,16	28,128	1300	uhlovodík	možný kontaminant, prokázán v uropygiálním sekretu strnadce zimního (Soini et al. 2007) a kura domácího (Williams et al. 2003)
59	Butan-1-ol	0,15	12,435	666	alkohol	
60	Pent-2-en-1-ol, (Z)-	0,14	15,773	772	alkohol	
61	Dodekan, 4,6-dimethyl-	0,12	27,962	1291	uhlovodík	možný kontaminant
62	Butanal	0,12	10,342	599	aldehyd	
63	Propanal, 2-methyl-	0,11	9,315	566	aldehyd	
64	Toluen	0,11	16,008	780	uhlovodík	možný kontaminant, jako kontaminant přítomen též ve studii těkavých látek v peří kura domácího (Bernier et al. 2008)
65	Dodekan-1-ol	0,09	31,915	1492	alkohol	
66	Hex-5-en-1-al	0,08	16,368	791	aldehyd	
67	Butan-1-ol, 2-methyl-	0,07	14,842	743	alkohol	
68	Thiazol	0,07	15,018	748	heterocyklická sloučenina	
69	Okt-1-en	0,07	16,405	793	uhlovodík	
70	Oktan-2-on	0,06	20,442	942	keton	

Pořadí sloučeniny	Název sloučeniny	Relativní koncentrace (%)	Retenční čas Rt (min.)	Retenční index I _x	Skupina sloučenin	Poznámky
71	Undekan-1-ol	0,05	29,863	1388	alkohol	
72	Nonan-1-ol	0,05	25,668	1178	alkohol	
73	Butan-2-on, 3-methyl-	0,04	10,108	592	keton	
74	Hex-2-en, 4,4,5-trimethyl-	0,03	17,517	832	uhlovodík	možný kontaminant
75	Dodekan, 4,6-dimethyl-	0,03	26,783	1233	uhlovodík	možný kontaminant
76	Pent-1-en, 2-methyl-	0,02	11,403	633	uhlovodík	
77	Pentan, 3-methyl-	0,01	9,867	584	uhlovodík	možný kontaminant

Příloha č. 4 – Individuální variabilita v koncentracích mastných kyselin (%).

mastná kyselina	nejnižší naměřená koncentrace	průměrná koncentrace u genotypu		nejvyšší naměřená koncentrace
		Ross 308	ISA Dual	
butanová	0,00	1,08	0,53	3,91
hexanová	0,00	1,99	1,09	3,88
palmitová	7,44	13,66	11,60	17,26
heptadekanová	3,25	5,97	4,53	11,08
stearová	15,52	20,91	24,77	31,99
cis-oktadec-9-enová (olejová)	3,08	6,47	9,15	11,22

Příloha č. 5 – Preference poddruhu komár pisklavý obtížný (*Culex pipiens molestus* Forsskål, 1775) k přirozenému pachu různých ptačích druhů. Kur domácí je pro tento druh komára vhodným hostitelem. Převzato ze Spanoudis et al. 2020.

