

## **Záverečná karta projektu**

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

**APVV-0514-07****Vplyv vybraných implementorov na fertilizačnú kapacitu semena baranov**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Alexander Makarevič, DrSc**Príjemca **CVŽV Nitra**

### **Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený**

1. Centrum výskumu živočíšnej výroby Nitra
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

### **Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení**

1. Agricultural Biotechnology Centre (ABC), Godollo, Maďarsko
- 2.
- 3.

### **Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu**

- 1.
- 2.
- 3.

### **Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače**

1. Makarevich A.V., Kubovicova E., Sirotkin A.V., Pivko J. Demonstration of the effect of epidermal growth factor on ram sperm parameters using two fluorescent assays. Vet. Med., 55, 2010, 581-589.
2. Makarevich A.V., Špaleková E., Olexiková L., Lukač N., Kubovičová E., Hegedušová Z. Functional characteristics of ram cooling-stored spermatozoa under the influence of epidermal growth factor. Gen. Physiol. Biophys. 2010 (in press).
3. Makarevich A.V., Kubovicova E., Pivko J., Olexikova L., Chrenek P. Effect of three semen extender additives on fertilizing capacity and membrane status of ram sperm. Proc. 14th Annual Conference of ESDAR (Eger, Hungary, 15-18 Sept. 2010), Reproduction in Domestic Animals, vol. 45 Suppl. 3, 2010, P139, p.96.

4. Kubovičová E., Riha L., Makarevich A.V., Apolen D., Pivko J. Effect of different semen extenders and additives to insemination doses on ewe's pregnancy rate. Slovak J. Anim. Sci., 43, 2010, 118-122.
5. Pivko J., Makarevich A.V., Kubovičová E., Riha L., Sirotkin A.V., Matejašaková E. Ultrastructural alterations in sperm heads under influence of several implementors to ram semen. Slovak J. Anim. Sci., 42, 2009, 149-154.

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Poznatky získané počas riešenia projektu sú čiastočne uverejnené, v budúcnosti budú publikované vo vedeckých a odborných časopisoch a prezentované na konferenciách. Na základe výsledkov bude vypracovaný nehmotný výstup vo forme metodiky, ktorá bude odovzdaná realizatorovi - Zväzu chovateľov oviec a kôz Slovenska.

### **CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV**

#### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku** (max. 20 riadkov)

Cieľom projektu bolo otestovať vplyv pridania aditív (epidermálny rastový faktor -EGF, inzulínu podobný rastový faktor I -IGF-I, glutatión a kofeín) do čerstvého semena baranov ako potenciálnych stimulátorov životaschopnosti a oplodňovacej kapacity semena počas niekoľkodňového skladovania v podchladenom stave (+4°C). Boli hodnotené nasledovné parametre semena: motilita (CASA), viabilita (SYBR14/PI), integrita (PNA-FITC) a stabilita (annexin V) membrán spermií, apoptóza (Yo-Pro-1), ultraštruktúra (elektrónová mikroskopia) membrán hlavičky spermie, penetračná a fertilizačná schopnosť in vitro (IVF test) a in vivo (inseminálny test). EGF udržiaval vyššiu viabilitu a pohyblivosť spermií, znižoval výskyt apoptózy a poškodenia membrán spermií, avšak fertilizačnú schopnosť semena in vitro teste nezvyšoval. IGF-I pozitívne vplýval na pohyblivosť, viabilitu, redukciu apoptózy a stabilitu membrán spermií, zvyšoval fertilizačnú schopnosť spermií in vitro (penetračná schopnosť) a mal stimulačnú tendenciu v inseminálnom teste. Kofeín mal väčšinou krátkodobý stimulačný účinok na motilitu spermií, znižoval apoptózy a membránovú destabilizáciu. Vyvolával však pseudoakrozómovú reakciu a nezvyšoval úspešnosť oplodnenia ako v IVF teste, tak aj in vivo. Glutatión stimuloval motilitu, znižoval percento apoptózy a podobne ako aj IGF-I a EGF udržiaval stabilitu ultraštruktúry membrán spermií, čo sa napokon odrazilo vo zvyšovaní koncepcného pomeru oviec po inseminácii. Záverom môžeme konštatovať, že IGF-I a glutatión sa ukazujú ako vhodnejšie aditíva, pretože na rozdiel od kofeínu, majú dlhodobý (postupný) účinok na udržiavanie stability a životaschopnosti spermií baranov počas hypotermického uskladnenia.

#### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku** (max. 20 riadkov)

The aim of the project was to test different additives (epidermal growth factor I - EGF, insulin-like growth factor I - IGF-I, glutathione, caffeine) to fresh ram semen as potential stimulators of viability and fertilizing capacity following several day hypothermic storage (+4°C). Following semen parameters were analyzed: motility (CASA), viability (SYBR14/PI), membrane integrity (PNA-FITC), membrane stability (annexin V), apoptosis (Yo-Pro-1), ultrastructure (electron microscopy) of sperm head membranes, sperm penetrating and fertilizing ability in vitro (IVF test) and in vivo (insemination test). EGF maintained higher sperm viability and motility, lowered apoptosis and membrane damages, but did not improve sperm fertilizing ability in IVF test. IGF-I positively influenced motility, viability, membrane stability, reduced apoptosis, improved sperm fertilizing ability in vitro and showed stimulating tendency in the insemination test. Caffeine had mostly short-term stimulating effect on sperm motility, reduced apoptosis and membrane destabilization. However, caffeine induced pseudoacrosomal reaction and did not improve sperm fertilizing capacity both in in vitro and in vivo tests. Glutathione stimulated motility, reduced apoptosis and, similar to IGF-I and EGF, maintained stability of sperm membrane ultrastructure, what was subsequently reflected in the elevation of ewe's

conceptional rate. In conclusion, IGF-I and glutathione seem to be more suitable additives to sperm extenders, as they have prolonged positive action on ram sperm quality during hypothermic storage.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

**Zodpovedný riešiteľ**

Alexander Makarevič

V Nitre 26.01.2011

**Štatutárny zástupca príjemcu**

Dana Peškovičová

V Nitre 26.01.2011

.....  
podpis zodpovedného riešiteľa

.....  
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu