

## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-14-0043**

**Kryouchovávanie živočíšnych genetických zdrojov na Slovensku**

Zodpovedný riešiteľ **prof., Ing. Peter Chrenek, PhD., DrSc.**

Príjemca **Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre - Fakulta biotechnológie a potravinárstva**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

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

žiadne

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

žiadne

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

ADC - wos

- 1) Kuliková B., Di Iorio M., Kubovičová E., Kuželová L., Iaffaldano N., Chrenek P.: The cryoprotective effect of Ficoll on the rabbit spermatozoa quality. ZYGOTE Volume: 23 Issue: 5 Pages: 785-794 Published: OCT 2015. [IF: 1,500]
- 2) Chrenek P., Makarevich A., Popelkova M., Schlarmanova J., Toporcerova S., Ostro A., Zivcak J., Bosze Zs. Ultrastructure of vitrified rabbit transgenic embryos. ZYGOTE Volume: 22 Issue: 4 Pages: 558-564 Published: NOV 2014 [IF: 1,500].
- 3) Chrenek P., Kubovicova E., Olexikova L., Makarevich A., Toporcerova S., Ostro A.: Effect of body condition and season on yield and quality of in vitro produced bovine embryos, Zygote (Cambridge, England) Volume: 23 Issue: 6 Pages: 893-9 Published: 2015-Dec (Epub 2014 Nov 26) [IF: 1,500]
- 4) Kuzelova L., Vasicek J., Chrenek P.: Influence of macrophages on the rooster spermatozoa quality. Reprod Dom Anim 50, 2015, 580-586, doi: 10.1111/rda.12528. [IF: 1,177]
- 5) Kulikova B., Jimenez-Trigos E., Makarevich A., Chrenek P., Vincente J.S., Marco-Jimez F.: State of actin cytoskeleton and development of slow-frozen and vitrified rabbit pronuclear zygotes. CRYOBIOLOGY Volume: 72(1), 2016, 14-20. [IF: 1,920]
- 6) Kovac M., Kulikova B., Balazi A., Olexikova L., Chrenek P.: Phenotype and ultrastructure of stem cells derived from amniotic fluid of nitra rabbit. In Journal of Central European Agriculture, vol. 18, no. 1, 2017, p. 226-234, . [IF: 0,400]
- 7) Kuzelova L., Vasicek J., Rafay J., Chrenek P.: Detection of macrophages in rabbit semen

- and their relationship with semen quality. *Theriogenology*, 97, 2017, 148-153. [IF: 1,877]
- 8) Chrenek P., Spalekova E., Olexikova L., Makarevich A., Kubovicova E.: Quality of Pinzgau bull spermatozoa following different periods of cryostorage. *Zygote*, 25, 2, 2017, 215-221. [IF: 1,053]
- 9) Pal D., Strejcek F., Tvrda E., Vasicek J., Balazi A., Chrenek P., Massanyi P.: Taurine does not improve quality of short-term stored rabbit spermatozoa in vitro. *Rep Dom Anim*, 52, 2017, 1046-1051. [IF: 1,400]
- 10) Kulíková B., Oravcová M., Balazi A., Supuka P., Chrenek, P.: Factors affecting rabbit semen storage as animal genetic resources. *Zygote*, 25, 5, 2017, 592-600. [IF: 1,050]
- 11) Svoradova A., Kuzelova L., Vasicek J., Balazi A., Hanusova E., Chrenek P.: In vitro effect of various cryoprotectants on the semen quality of endangered Oravka chicken. *Zygote*. 2017 Dec 12:1-7. doi: 10.1017/S0967199417000685. [IF: 1,050]
- 12) Kovac M., Vasicek J., Kulikova B., Bauer M., Curlej J., Balazi A., Chrenek P.: Different RNA and protein expression of surface markers in rabbit amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells. *Biotechnol Prog*. 2017 Nov;33(6):1601-1613. doi: 10.1002/btpr.2519 [IF: 2,100]
- 13) Miranda M., Kulikova B., Vasicek J., Olexikova L., Iaffaldano N., Chrenek P.: Effect of cyroprotectants and thawing temperatures on chicken sperm quality. *Reprod Dom Anim* 53, 2018, 93-100. [IF: 1,350]
- 14) Svoradova A., Kuzelova L., Vasicek J., Olexikova L., Chrenek P.: Cryopreservation of chicken blastodermal cells and their quality assessment by flow cytometry and transmission electron microscopy. *Biotech Progress*, accepted Janury 2018.
- 15) Vasicek J., ....., Chrenek P: Critical assessment of the efficiency of CD34 and CD133 antibodies for enrichment of rabbit hematopoietic stem cells". *Biotechnology Progress*, accepted, May 2018
- 16) Svoradova A., Kuzelova L., Vasicek J., Olexikova L., Balazi A., Kulikova B., Hrnecar C., Ostro A., Chrenek P.: The Assessment of Cryopreservation on the Quality of Endangered Oravka Rooster Spermatozoa using CASA and Flow Cytometry. *Cryolleters*, accepted Jun 2018 [IF: 0,628]
- AAB Monografie
- 1) Makarevic A., Kubovicova E., Olexikova L., Ostro A., Zivcak A., Chrenek P.: Oplodnenie in vitro u živočíchov. SPU Nitra, 2017, 175, ISBN 978-80-552-1624-9.
- 2) Chrenek P., Pivko J., Makarevic A., Kubovicova E., Olexikova L., Vasicek J., Kuzelova L.: Ultraštruktúra pohlavných a kmeňových buniek kráľika. SPU Nitra, 2017, 97, ISBN 978-80-552-1692-8.
- 3) Chrenek P., Kuzelova L., Vasicek J., Olexikova L., Svoradova A.: Mikroskopické analýzy pohlavných a kmeňových buniek hydiny. SPU Nitra, 2018, 106 strán, ISBN 978-80-552-1794-9.

### Uplatnenie výsledkov projektu

Efektívne kryokonzervovanie biologického materiálu niektorých druhov hospodárskych zvierat zatiaľ nie je úplne zvládnuté. Výsledkom je napríklad znížená prežívateľnosť alebo znížená kvalita zmrazených/rozmrazených spermíí, embryí a kmeňových buniek hospodárskych zvierat. Cieľom riešeného projektu bola optimalizácia niektorých metodík získavania, kryochovávania a hodnotenia kvality spermíí, embryí a kmeňových buniek prioritne tých plemien hospodárskych zvierat, ktorých počet jedincov na základe monitoringu pokladáme za ohrozený či rizikový. Medzi takéto plemená patria aj pinzgauský dobytok, dve plemená králikov (nitriansky a zoborský králik) a jedno plemeno sliepok (oravka). Získané výsledky umožnili rozšíriť kryochovávaný biologický materiál v živočíšnej génovej banke, perspektívne budovanej na pracovisku VÚŽV NPPC Nitra (Výskumný ústav živočíšnej výroby, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum Nitra) v spolupráci s FBP SPU Nitra (Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra).

Získané výsledky sú súčasťou archivovanej dokumentácie o genetických živočíšnych zdrojoch a sú prístupné pre porovnávacie štúdie, šľachtiteľské programy v rámci SR, ako aj pre zahraničné pracoviská zapojené v programoch celosvetovej ochrany živočíšnych genetických zdrojov pod patronátom FAO.

Úspešne sme optimalizovali metodiky týkajúce sa kryokonzervovania spermíí, embryí a kmeňových buniek králikov s úspešným výstupom vo WOS - karentované publikácie

(celkovo 14) a troch monografií. Génová banka živočíšnych genetických zdrojov na VÚŽV NPPC Nitra v spolupráci s SPU Nitra bola doplnená o inseminačné dávky všetkých uvedených plemien, ako aj embryá a kmeňové bunky králikov a hydiny.

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

Projekt bol riešený v rámci troch etáp: Etapa 1 - zameraná optimalizáciu metodík kryochovávania spermíí, embryí a kmeňových buniek králikov a hovädzieho dobytká. Výsledkom je ich optimalizácia (konkrétne protokoly) potvrdená hodnotením kvality uvedeného biologického materiálu flourescencnou a elektrónovou mikroskopiou, ako aj molekulárno-genetickými analýzami. Etapa 2 - zameraná optimalizáciu metodík izolácie, manipulácie a kryochovávania spermíí a kmeňových buniek (blastodermálne a primordiálne) hydiny. Významným úspechom je optimalizácia uvedených metód (konkrétne protokoly) a ich etablovanie na Slovensku ako jediné pracovisko. Kvalita získaného biologického materiálu plemena oravka bola tiež analyzovaná svetelenou, flourescencnou a elektrónovou mikroskopiou akoaj molekulárno-genetickými analýzami. V tejto etape sme úspešne ako prvý vo svete otestovali aj nový marker (ALDH -Aldehyd dehydrogenase) originality primordiálnych kmeňových buniek hydiny. Etapa 3 - bola zameraná na naskladňovanie zamrazených vzoriek do génovej banky živočíšnych genetických zdrojov, ich registráciu na "www. efabis" a "www. cryoweb". Dosiahnutie kvalitných výsledkov potvrdzujú viaceré publikácie v zahraničných časopisoch a tri monografie. V rámci projektu bola realizovaná aj medzinárodná konferencia zameraná na živočíšne genetické zdroje (Animal Biotechnology 2017). V neposlednom rade projekt umožnil kryokonzervovanie biologického materiálu viacerých ohrozených plemien chovaných na Slovensku, čím reálne plníme podmienky zmluvy podpísanej medzi SR a FAO v roku 1994 týkajúcej sa genetických zdrojov.

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

The project was realized in three stages: Stage 1 - focused on the optimization of sperm, embryo and stem cells cryoprotection methods of rabbit and cattle . The result is their optimization (specific protocols) confirmed by the evaluation of the quality of the biological material by fluorescence and electrone microscopy, as well as by molecular genetic analyzes. Stage 2 - focused on the optimization methods of isolation, manipulation and cryoprotection of sperm and stem cells (blastodermal and primordial) of poultry. A major success is the optimization of these methods (specific protocols) and their establishment in Slovakia as the only workplace. The quality of the biological material obtained from the Oravka breed was also analyzed by light, fluorescence and electron microscopy as well as by molecular-genetic analyzes. At this stage, we successfully tested the new marker (ALDH- Aldehyde dehydrogenase) as the first in the world to ensure the originality of primordial poultry stem cells. Stage 3 - focused on placing frozen samples of slovak breeds in a gene bank of animal genetic resources, registering them on "www. Efabis" and "www. Cryoweb". Achieving good results is confirmed by several publications in foreign journals and three monographs. The project was also hosted by the International Conference on Animal Genetic Resources (Animal Biotechnology 2017). Last but not least, the project enabled the cryopreservation of biological material of several endangered breeds reared in Slovakia, thus fulfilling the conditions of the contract signed between the Slovak Republic and the FAO in 1994 concerning genetic resources.

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

**Zodpovedný riešiteľ**  
prof., Ing. Peter Chrenek, PhD., DrSc.

**Štatutárny zástupca príjemcu**  
doc., Ing. Klaudia Halászová, PhD.

V ..... dňa .....

V ..... dňa .....

.....  
Podpis zodpovedného riešiteľa

.....  
Podpis štatutárneho zástupcu príjemcu