

## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-17-0124****Ochrana ohrozených slovenských plemien hospodárskych zvierat v podmienkach ex situ**Zodpovedný riešiteľ **prof. Ing. Peter Chrenek, DrSc.**Príjemca **Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

NPPC VÚŽV Nitra v spoluprácu s FBP SPU Nitra

### 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:

- 1) Olexikova L., Miranda M., Kulikova B., Balazi A., Chrenek P.: Cryodamage of plasma membrane and acrosome region in chicken sperm. *Anatomia Histologia Embryologia*, 48, 2019, 33-39. [IF: 0,685]
- 2) Svoradova A., Vasicek J., Ostro A., Chrenek, P.: Aldehyde dehydrogenase in fresh primordial germ cells as a marker of cell 'stemness'. *Zygote*, 2019 Feb 1: 46-48, doi: 10.1017/S0967199418000631 [IF: 1,257]
- 3) Kulikova B., Kovac M., Bauer M., Tomkova M., Olexikova L., Vasicek J., Balazi A., Makarevich A.V., Chrenek P.: Survivability of rabbit amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells post slow-freezing or vitrification. *Acta Histochem.*, 121, 2019, 491-499. [IF: 2,107], Q2-Q3
- 4) Svoradova A., Makarevich A., Vasicek J., Olexikova L., Dragin A., Chrenek P.: "Microscopic assessment of dead cell ratio in cryopreserved chicken primordial germ cells". *Microscopy and Microanalysis*, 2019, 25, 1257-1262. doi: 10.1017/S1431927619014934. [IF: 3,414], Q2
- 5) Vasicek J., Kováč M.; Baláži A., Kulíková B., Tomková M., Olexiková L., Čurlej J., Bauer M., Schnabl S., Hilgarth M., Hubmann R., Shehata M., Chrenek P.: A combined approach for characterization and quality assessment of rabbit bone marrow-derived mesenchymal stem cells intended for gene banking. *New Biotechnology*, 54, 2020, 1-12 [IF: 5,079], Q1
- 6) Olexiková L, Dujíčková L, Kubovičová E, Pivko J, Chrenek P, Makarevich AV.:

Development and ultrastructure of bovine matured oocytes vitrified using electron microscopy grids. *Theriogenology* 2020 Sep 9; 158, 258-266. doi: 10.1016/j.theriogenology.2020.09.009. [IF: 2,094], Q1

7) Vasicek J., Svoradova A., Balazi A., Jurcik R., Machac M., Chrenek P.: Ram semen quality can be assessed by flowcytometry several hours after post-fixation. *Zygote*. 2021 Apr; 29(2):130-137. doi: 10.1017/S0967199420000581. [IF: 1,442], Q4

8) Kubovicova E., Makarevich A., Balazi A., Vasicek J., Chrenek P.: Factors affecting rabbit sperm cryopreservation: A mini-review. *Zygote*. 2021 Jun 3:1-8. doi: 10.1017/S0967199421000137. [IF: 1,442], Q4

9) Svoradová A., Kuželová L., Vašíček J., Baláži A., Olexiková L., Makarevich A., Chrenek P.: Rooster spermatozoa cryopreservation and quality assessment. *CryoLetters* 42 (2), 59 – 66 (2021) [IF: 0,702], Q3

10) Vašíček J., Baláži A., Bauer M., Svoradová A., Tirpáková M., Ondruška L., Parkányi V., Makarevich A., Chrenek P.: Enrichment of rabbit primitive hematopoietic cells via MACS depletion of CD45+ bone marrow cells. *Magnetochemistry*, 2021, 7(1),11, pp. 1-15 [IF: 2,193], Q2

11) Tirpakova M., Vasicek J., Svoradova A., Balazi A., Tomka M., Bauer M., Makarevic A., Chrenek P.: Phenotypical characterization and neurogenic differentiation of rabbit adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Genes*, 2021, 12(3):431.

<https://doi.org/10.3390/genes12030431> [IF: 4,096], Q2

ADN

1) Kubovicova E, Makarevich A.V., Balazi A., Olexikova L., Bauer M., Vasicek J., Ostro A., Dragin S., Chrenek P.: Protection and sustainability of Slovak animal genetic resources in order to ensure the self-sufficiency in quality food in Slovakia. *JMBFS*, 2020, 9(5), 1029-1033. [IF:1,856]

2) Vašíček J., Svoradová A., Baláži A., Jurčík R., Macháč M., Ostró A., Chrenek P.: Optimization of FACS sorting for the improvement of livestock semen quality. *JMBFS*, 2021:10(4) 697-705.

AAB

1) Chrenek P., Svoradová A., Kubovicčová E., Olexiková L., Tomková M., Bauer M., Vasicek J., Balazi A., Makarevic A., Ostro A.: Kryokonzervácia živočíšneho biologického materiálu. SPU Nitra, 2019, 105 strán, ISBN978-80-552-2017-8.

2) Baláži A., Foldešiová M., Chrenek P.: Biologicky aktívne látky v reprodukcií králikov. SPU Nitra, 2020, 101 strán, ISBN: 978-80-552-2141-0.

ACB

1) Chrenek P., Makarevic A., Kubovicova E., Bulla J., Supuka P.: Slovenské národné plemená zvierat. SPU Nitra 2019, 99 strán, ISBN 978-80-552-1982-0. Prvé vydanie.

2) Chrenek P., Capcarova M., Galik B.: Biotechnology in Animal Production. Slovak University of Agriculture in Nitra, 2020, 135 strán, ISBN 978-80-552-2181-6.

3) Makarevic A., Olexikova L., Kubovicova E., Chrenek P.: In vitro manipulácie s embryami hovädzieho dobytku. SPU Nitra, 2020, 30 strán, ISBN 978-80-552-2202-8.

### Uplatnenie výsledkov projektu

Projekt má charakter základného výskumu, výsledkom ktorého je doposiaľ 11 prác a 10 citácií vo WOS a SCOPUS, 2 monografie a 2 vysokoškolské učebnice.

Vďaka projektu a riešenej problematike sme zorganizovali 3 medzinárodné konferencie: 1) DAGENE, Topoľčianky 2019, 2) Animal Biotechnology Nitra 2019 a 3) Animal Biotechnology 2020, kde boli prezentované viaceré dosiahnuté výsledky riešenia projektu.

Vďaka projektu boli vyvolané projekty, ktorých cieľom je pokračovať v riešenej problematike doma, alebo v spolupráci so zahraničnými inštitúciami - Univerzita Krakow a Univerzita Novi Sad : 1) APVV-20-0006, 2) APVV-SK-PL-21-0038, 3) APVV-SK-SRB-21-0029

Vďaka projektu bola úspešne obhájená PhD. práca, Ing. Mária Tomková, PhD., na FBP SPU Nitra a 6 diplomoviek.

Napriek charakteru projektu - základný výskum, výstupom pre prax sú konkrétne zamrazené vzorky spermii a kmeňových buniek slovenských národných plemien (králiky, barany, sliepky) pre účely národnej génovej banky SR, všetky vzorky sú registrované v medzinárodnej databáze (www.cryoweb.com).

### Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku

**(max. 20 riadkov)**

Cieľom predkladaného projektu bola optimalizácia vybraných metodík získavania, kryouchovávania a hodnotenia kvality spermii a kmeňových buniek prioritne tých slovenských plemien hospodárskych zvierat, ktorých počet jedincov na základe monitoringu pokladáme za ohrozený či rizikový. Medzi takéto plemená patria aj pinzgauský dobytok, dve plemená králikov (holíčsky modrý a slovenský sivomodrý rex), jedno plemeno oviec (pôvodná valaška) a sliepky (Oravka). Získané výsledky umožnia rozšíriť kryouchovávaný biologický materiál v živočíšnej génovej banke, perspektívne budovanej na pracovisku NPPC VÚŽV Nitra v spolupráci s SPU v Nitra.

Optimalizácia metodík kryouchovávania (čas ekvibrácie spermii pre zmrazovaním - baranie spermie, aplikácia Ficollu ako kryoprotektívnej látky - králičie spermie, prietoková cytometria - precíznejšie hodnotenie kvality sledovaných buniek.....) umožnila úspešne zmrazovať sledovaný reprodukčný biologický materiál slovenských národných plemien hospodárskych zvierat. Výsledkom je dosiahnutá vysoká progresívna motilita 85% spermii po rozmrazení a prežítateľnosť kmeňových buniek (90%), čo je jeden z dôležitých faktorov hodnotenia kvality spermii a kmeňových buniek. Metódy ako CASA, prietoková cytometria, prípadne využitie elektrónovej mikroskopie nám umožnili precíznejšie hodnotenia kvality čerstvých a rozmrazených spermii a kmeňových buniek.

Všetky analyzované slovenské národné plemená v uvedenom projekte sú vo forme zmrazených spermii, prípadne kmeňových buniek zamrazené a uložené v génovej banke na NPPC VÚŽV Nitra na dlhodobé kryouchovávanie. Vzorky boli zároveň registrované v medzinárodnej databáze. [www.cryoweb.com](http://www.cryoweb.com). Plánované ciele, vrátane výstupov sme počas troch rokov riešenia splnili.

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

The aim of the submitted project is to optimize the methodologies for obtaining, cryopreservation and quality evaluation of spermatozoa and stem cells of slovak farm animal breeds that are endangered or at risk based on monitoring. These breeds are pinzgau cattle, two rabbit breeds (holic blue and Slovak grey-blue Rex), one sheep breed (original valachian) and chicken (oravka). Obtained results allow to extend the animal gene bank, established prespectively at NPPC Research Institute for Animal Production Nitra in collaboration with Slovak University of Agriculture in Nitra, for cryopreserved biological material.

Optimization of cryopreservation methods (equilibration time of ram sperm before freezing - ram sperm, application of Ficoll as a cryoprotective substance - rabbit sperm, flow cytometry - indicate of stem cell quality, ..... ) made it possible to successfully freeze the monitored reproductive biological material of Slovak national livestock breeds. The result is a high progressive motility of 85% of sperm and stem cells (90%) after thawing, which is one of the important factor in assessing sperm and stem ceels quality. Methods such as CASA, flow cytometry, or the use of electron microscopy have allowed us to more accurately evaluate the quality of fresh and thawed sperm and stem cells.

All analyzed Slovak national breeds in the project are cryoprotected in the form of frozen sperm or stem cells and stored in a gene bank at the NPPC VÚŽV Nitra. The samples were also registered in an international database ([www.cryoweb.com](http://www.cryoweb.com)). We met the planned goals, including outputs, within three years of the solution.