

Oponentský posudok habilitačnej práce

Autorka habilitačnej práce:

Názov habilitačnej práce:

Odbor habilitačného konania

Meno oponentky

Pracovisko oponentky

RNDr. Andrea Svoradová, PhD.

Vplyv kryouchovávania na kvalitu
kmeňových a reprodukčných buniek hydiny
Biológia

doc. Ing. Henrieta Arpášová, PhD.

Ústav chovu zvierat, FAPZ, SPU v Nitre

Hospodárske zvieratá a ich genetický materiál sú živočíšne genetické zdroje, ktoré sú súčasťou biodiverzity a agrobiodiverzity. Vznikli výsledkom činnosti človeka a vo svojej rozmanitosti predstavujú zdroj prispôsobovania a rozvíjania produkčných systémov.

Narušenie rozmanitosti živočíšnych genetických zdrojov ohrozuje schopnosť poľnohospodárov a chovateľov hospodárskych zvierat reagovať na environmentálne a sociálno-ekonomické zmeny, ktoré môžu výrazným spôsobom ovplyvniť biodiverzitu. Ak klesá biodiverzita, hrozí aj strata schopnosti zabezpečovať potraviny pre človeka.

Ochrana živočíšnych genetických zdrojov vyplýva z Európskeho akčného plánu pre biodiverzitu v poľnohospodárstve, Globálnej stratégie pre riadenie genetických zdrojov hospodárskych zvierat FAO OSN. Z iniciatívy FAO bola vytvorená globálna stratégia manažmentu genetických zdrojov zvierat, ktorá zdôrazňuje dôležitosť používania molekulárnych markerov na hodnotenie genetického stavu ohrozených plemien a vhodné metódy ich ochrany.

Slovenské poľnohospodárstvo a najmä živočíšna výroba permanentne zaznamenáva rok čo rok znižovanie stavov hospodárskych zvierat, vrátane hydiny. Podobná situácia je na Slovensku aj v chovoch autochtónnych plemien hydiny, kde sa v závislosti od plemena počty chovaných jedincov za posledné roky závažným spôsobom znížili.

Uchovávanie biologického materiálu patrí medzi základné procesy v oblasti biotechnológií, bunkovej a molekulárnej biológie. Zahŕňa rôzne metódy v závislosti od typu materiálu a jeho účelu. Moderné biotechnologické prístupy sa čoraz viac sústreďujú na *ex situ* ochranu prostredníctvom kryouchovávania, ktoré umožňuje dlhodobé uchovávanie biologického materiálu pri ultra nízkych teplotách.

Predložená habilitačná práca má 143 strán, vrátane 12 tabuliek a 30 obrázkov uvedených v pôvodných vedeckých štúdiách. Habilitačná práca je spracovaná prehľadne, má požadovanú štruktúru a primeraný rozsah. Pozostáva z abstraktu, literárneho prehľadu, cieľov, experimentálnej časti, ktorá pozostáva z najvýznamnejších pôvodných vedeckých prác autorky a kolektívov, publikovaných v indexovaných vedeckých časopisoch evidovaných v databázach Web of Science a/alebo Scopus, ďalej nasledujú kapitoly „Výsledky a diskusia“, „Záver“, „Využitie výsledkov v praxi“ a „Zoznam použitej literatúry“.

Abstrakt je primerane dlhý, v abstrakte autorka stručne a jasne sumarizuje výsledky pozorovaní. V kapitole „Prehľad literatúry“ sú uvedené a vysvetlené pojmy, ktorých sa týkajú vedecké publikácie uvedené k danej problematike v experimentálnej časti práce. Cieľ habilitačnej práce je formulovaný jasne a je v súlade s predloženým textom. Rozdelený je na 3 čiastkové ciele, zamerané prostredníctvom uvedených publikácií na prezentovanie zistení jednak ohľadom izolácie, hodnotenia a kryouchovávania embryonálnych kmeňových buniek, jednak ohľadom izolácie, hodnotenia a kryouchovávania dospelých kmeňových buniek a tretím čiastkovým cieľom je prostredníctvom uvedených publikácií prezentovanie zistení ohľadom odberu, kvalitatívneho hodnotenia a kryouchovávania spermií kohútov plemena oravka. Experimentálnu časť práce tvorí 66 strán, je najrozsiahlejšou časťou práce, pozostáva

z 8 experimentálnych vybraných autorských prác a 1 review, je tematicky rozdelená v súlade s cieľmi na 3 podkapitoly v závislosti od typu buniek, ktorým sa vedecké články v danej podkapitole zaoberajú. Všetky články boli publikované v rozpätí rokov 2018 – 2023, vo vedeckých časopisoch s kvartilmi Q1 – Q4. Autorka je prvým autorom vo všetkých publikáciách. Predložené publikácie v tejto časti prešli samostatným recenzným konaním a prezentujú pôvodné vedecké poznatky so zreteľným prínosom pre rozvoj odboru, ako aj pre prax. V kapitole „Výsledky a diskusia“ autorka postupne po jednotlivých vedeckých publikáciách sumarizuje najvýznamnejšie zistenia jednotlivých publikácií a v rámci diskusie diskutuje o problematike s výsledkami štúdií ďalších autorských kolektívov. Na základe výsledkov výskumu v štúdiách uvedených v práci ako aj výskumu citovaných autorských kolektívov tak poskytuje práca komplexný obraz o riešenej problematike.

V kapitole „Záver“ autorka jasne a zrozumiteľne po jednotlivých podkapitolách uvádza najzásadnejšie zistenia, ku ktorým spolu s členmi autorských kolektívov dospeli. V časti „Využitie výsledkov v praxi“ uvádza principiálny dôvod uchovávanía genetického materiálu plemena oravka. Zoznam použitej literatúry tvorí 206 citácií prevažne zahraničnej literatúry podrobne mapujúcich situáciu. Všetky použité zdroje majú úzky súvis s riešenou problematikou. Literárne zdroje pochádzajú z kvalitných vedeckých periodík, čo svedčí o fundovanosti autorky aj ohľadom práce s literatúrou a záujme o riešenie problematiky. V prílohách je uvedený zoznam publikácií uvedených v habilitačnej práci.

Aktuálnosť problematiky

Téma predkladanej habilitačnej práce je vysoko aktuálna. Autorka sa zaoberá problematikou kryouchovávania rozdielnych typov buniek nášho najznámejšieho autochtónneho plemena oravka, za účelom uchovávanía genetického materiálu tohto plemena v živočíšnej génovej banke na NPPC-VÚŽV Nitra, ktorá intenzívne a permanentne realizuje kryouchovávanie DNA a vzoriek biologického materiálu prioritne slovenských autochtónnych plemien zvierat, je jedinou bankou svojho druhu na Slovensku.

Druh kura domáca s veľmi rozmanitým genofondom a vysokou adaptabilitou sa stal hospodársky najvýznamnejším aviárnym druhom na svete. Chovatelia čistokrvných plemien hydiny udržujú a zošľachtujú tradície, ktorí tvoril a zhromažďoval človek po tisícročia svojej existencie. Význam tejto činnosti zvyšuje nárast génovej základne zvierat, ich úžitkových schopností ako aj exteriérových znakov. Mnohé z vyšľachtených znakov a vlastností predstavujú veľkú génovú rezervu, ktorú možno kedykoľvek využiť aj v intenzívnych podmienkach veľkovýroby.

Plemeno kúr oravka ani ďalšie slovenské autochtónne plemená hydiny síce nedokážu svojimi nižšími úžitkovými parametrami konkurovať výkonnejším plemenám a hybridom, avšak v ich genotype sa ukrývajú a stále prežívajú gény, ktoré sa šľachtiteľskou prácou pri kultúrnych plemenách alebo vysoko výkonných hybridoch stratili. Tieto plemená sú na našom území šľachtené po mnoho generácií, prispôsobili sa špecifickým podmienkam prostredia a predstavujú nesmierne cenné a nenahraditeľné genetické a kultúrno-historické dedičstvo. Pôvodné plemená hydiny zohrávajú dôležitú spoločenskú úlohu, majú pozitívny vplyv na udržanie vidieka a tradičnej formy poľnohospodárstva rešpektovaním miestnych tradícií. Predstavujú génový zdroj pre budúce šľachtiteľské stratégie a výskum, sú vhodné pre alternatívne poľnohospodárstvo, naplňajú špecifický ráz krajiny. V systéme produkcie hydiny majú pôvodné plemená dôležitú úlohu pri ochrane biodiverzity a udržateľnosti poľnohospodárskej výroby. Možné vyhynutie týchto plemien by tiež znamenalo nenahraditeľnú stratu genetickej variability a tým stratu jedinečných kombinácií génov a alel,

ktoré by boli v budúcnosti veľmi užitočné, napr. aj na generovanie nových genotypov hospodárskych zvierat. Ide teda o komplex dôvodov pre ich zachovanie.

Úspech reprodukcie, životaschopnosť a zdravie potomkov závisí od kvality a životaschopnosti spermií a vývojového potenciálu vyvinutých embryí. Uchovávanie biologického materiálu patrí medzi základné procesy v oblasti biotechnológií, bunkovej a molekulárnej biológie. Genetické zdroje obsahujú funkčné jednotky dedičnosti v pohlavných bunkách. Spermie kohútov plemena oravka, ktoré sú v génovej banke uložené by mohli byť v prípade potreby distribuované SZCH. Na druhej strane, dlhodobé skladovanie genetického materiálu, tzv. génová rezerva, je k dispozícii ako cenná záloha na obnovu či zušľachtenie plemena. Vďaka kryokonzervácii môže mať tento genetický materiál v prípade potreby využitie nielen v súčasnosti, ale hlavne má veľký potenciál využitia v budúcnosti.

Splnenie stanovených cieľov

Cieľom práce bolo prostredníctvom publikácií prezentovať v troch čiastkových cieľoch zistenia ohľadom izolácie, hodnotenia a kryouchovávania embryonálnych kmeňových buniek, jednak ohľadom izolácie, hodnotenia a kryouchovávania dospelých kmeňových buniek a odberu, kvalitatívneho hodnotenia a kryouchovávania spermií kohútov plemena oravka. Publikácie uvedené v experimentálnej časti boli na základe tohto cieľa rozdelené do 3 kategórií. 4 publikácie sa venujú problematike kryokonzervácie embryonálnych kmeňových buniek hydiny, 2 publikácie problematike kryokonzervácie dospelých kmeňových buniek a 3 publikácie sa zaoberajú problematikou samčích reprodukčných buniek. Ciele práce boli v rámci experimentov uvedených v publikáciách v predloženej habilitačnej práci naplnené.

Zvolené metódy spracovania

Ako už bolo uvedené, experimentálna časť habilitačnej práce je tvorená vedeckými publikáciami, v ktorých sú rozdielne metodické postupy. Príslušné renomované, väčšinou zahraničné vedecké časopisy publikácie prijali, úspešne prešli recenzným konaním a boli publikované, čo svedčí o ich kvalite a relevantnosti zvolených metodických postupov.

Výsledky habilitačnej práce a nové poznatky

V časti Výsledky a diskusia autorka postupne, v rozsahu 12 strán, po jednotlivých vedeckých publikáciách sumarizuje najvýznamnejšie zistenia jednotlivých publikácií a v rámci diskusie v dostatočnom rozsahu konfrontuje dosiahnuté výsledky s výsledkami štúdií ďalších, najmä zahraničných autorských kolektívov

Habilitačná práca s množstvom prácnych metodík v uvedených publikáciách, prináša vo svojich výsledkoch nové, cenné informácie ohľadom úspešného kryouchovávania buniek a spermií nášho najznámejšieho autochtónneho plemena oravka a zároveň dopĺňa a rozširuje doposiaľ známe poznatky v súvislosti s kryouchovávaním genetického materiálu vtákov.

Záver

Záver habilitačnej práce vychádza z cieľov práce a výsledkov. Stručne a jasne sumarizujú zistené skutočnosti.

Pripomienky k habilitačnej práci

Habilitantke si dovoľujem položiť nasledovné otázky:

1. Môžete detailnejšie priblížiť metodické postupy izolácie blastodermálnych buniek a primordiálnych germinálnych buniek?
2. Rozdiely v objeme ejakulátu, koncentrácií a morfológii spermií vtákov a cicavcov si vyžadujú rozdielne mechanizmy v procese kryouchovávania. V čom spočívajú špecifické výzvy pri kryouchovávaní spermií hydiny v porovnaní s kryouchovávaním spermií cicavcov vyplývajúce z týchto rozdielov?
3. Aké sú riziká, že kryokonzervované bunky nebude možné po rozmrazení použiť?
4. Aké sú možnosti využitia génovej banky v krízových situáciách? Je možné zabezpečiť dlhodobú udržateľnosť génových bánk?
5. Do akej miery možno kryokonzervačné protokoly optimalizované pre hydinu aplikovať aj na iný druh, resp. do akej miery je potrebné prispôbovať kryokonzervačné protokoly konkrétnym plemenám?
6. Neplánujete v budúcnosti kryokonzervovať bunky ďalších farebných rázov kúr plemena oravka, resp. našich ďalších autochtónnych plemien hydiny - plemena zdobnená oravka, slovenská biela hus a suchovská hus?

Záver

Z hľadiska obsahu, rozsahu aj formy spracovania spĺňa habilitačná práca podmienky kladené na tento druh prác. Je spracovaná kvalitne, na veľmi dobrej úrovni, s množstvom zaujímavých a cenných výsledkov, ktoré tvoria výstup prácnych metodík jednotlivých experimentov. Obsahom a technickou úpravou práce je možné konštatovať zodpovedný a cieľavedomý prístup autorky a schopnosť vynikajúcej orientácie v riešenej problematike. O fundovanosti habilitantky svedčí dlhodobé pôsobenie v danej vedeckej oblasti a záujem o problematiku uchovávanie genetických zdrojov podložený publikáciami a množstvom citácií v zahraničných indexovaných časopisoch, ako aj zisk ocenenia v kategórii Osobnosť vedy a techniky do 35 rokov za vedecký prínos v oblasti poľnohospodárskych a živočíšnych biotechnológií a biomedicíny „Ochrana biodiverzity kryouchovávaním spermií, embryonálnych, dospelých kmeňových buniek národných plemien zvierat“ v roku 2023.

Celkovo je možné konštatovať, že habilitantka spracovaním habilitačnej práce preukázala svoju erudovanosť a mieru odbornosti v skúmanej problematike. Predkladaná práca tak významne prispieva k ochrane a uchovávaniu genetického materiálu plemena oravka a jeho možnému budúcemu využitiu v poľnohospodárstve.

Na základe vyššie uvedených skutočností odporúčam habilitačnú prácu k obhajobe a po úspešnej obhajobe navrhujem udeliť habilitantke vedecko-pedagogický titul docent.

V Nitre, dňa 19.08.2025

.....
doc. Ing. Henrieta Arpášová, PhD.