

РЕЦЕНЗИЯ

На дисертационен труд, представен от Кирил Йорданов Лазов за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ по научна специалност „Развъждане на селскостопански животни, биология, биотехника на размножаването“; Научно направление ш.б.3. „Животновъдство“; Област на висше образование ш.б „Аграрни науки и ветеринарна медицина“ на тема: **„Роля на семенната плазма и биологични активни вещества с цел разработване на нова технология за криоконсервация на сперма от кучета“.**

От проф. д-р Бойчо Лазаров Биволарски, пенсионер

Информация за кандидата

Асистент Кирил Йорданов Лазов е роден на 25.01.1982 г. в гр. Благоевград. Висшето си образование завършва в Тракийски университет, Стара Загора, специалност Ветеринарна медицина през 2007 г. и получава образователно-квалификационна степен „магистър“. Последователно работи като ветеринарен лекар във ветеринарна клиника „Анимо“, асистент в ИБИР, търговски представител в „Киатфарма“ и личен асистент на дъщеря си. Владее писмено и говоримо английски и руски език. Има публикувани 6 научни работи, реферирани в SCOPUS, Web of Science и CABI, както и 5 публикации в национални реферирани издания. Освен това има и 5 цитирания на научната му продукция.

Актуалност на темата

Известно е, че криоконсервацията на сперма от кучета е една от най-важните репродуктивни биотехнологии за съхранение и размножаване на генетичния материал както приживе, така и след смърта на мъжките донори. Този метод улеснява транспортирането на спермата на дълги разстояния и значително намалява транспортните разходи. От друга страна криоконсервацията на спермата при кучета може да служи като модел и да бъде прилагана и при други видове от род *Candidi*, което оптимизира икономическите процеси на репродукцията на животните, както и подобрява зоохигиенните условия на тяхното отглеждане.

Успешното осъществяване на изкуственото осеменяване на всички видове животни изисква следните три предпоставки – след получаване и разреждане

спермалната течност трябва да бъде съхранявана без сперматозоидите да губят оплодителната си способност; втората предпоставка е възможността върху женското животно да бъде извършена инсеминация възможно най-близко до мястото на фертилизацията и намиране на подход за търсене на най-подходящия момент за изкуствено осеменяване, с препоръка без присъствие на мъжкото животно.

Отчитайки факта, че изкуственото осеменяване при кучета се използва по-рядко, следва да отбележа, че са налице все още нерешени проблеми, свързани с изброените три предпоставки за неговото прилагане. Това е и причината за изоставането на асистираната репродукция при кучета, сравнена с останалите животински видове. В този ред на мисли смятам, че представеният проект за рецензиране е актуален както в национален, така и в световен мащаб.

Структура на дисертацията

Дисертационният труд на Кирил Лазов е написан на 127 стандартни машинописни страници, илюстриран с 30 фигури и 2 таблици. Авторът се е съобразил с изискванията за отпечатване на дисертационен труд и последователно са представени: увод, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати и дискусия, заключение, изводи, оригинални приноси с научно-приложен характер, използвана литература и приложения (3 на брой).

Литературният преглед на дисертационния труд третира и анализира достатъчен брой източници. В хронологичен ред са представени въведение и същност на криобиологията; кратка анотация и физиология на сперматозоидите; ефект на криоконсервацията върху клетките; криобиологични събития по време на замразяване и размразяване; криопротектори и техния механизъм на действие; криопротектиращи вещества и методите за оценка на спермата преди и след размразяване. Следва да отбележа, че авторът компетентно и задълбочено е проследил съвременните литературни източници, което е гаранция за добра познаваемост на третираните въпроси на криобиологията.

Въз основа на набелязаните и анализирани в литературния обзор проблеми е поставена конкретна цел – **да се проучи ролята на семенната плазма и възможността за комбинираното прилагане на биологични активни вещества: витамини А, Дз и Е върху основни параметри на сперматозоиди от куче в процеса на криоконсервация.**

Във връзка с поставената цел са поставени 6 основни задачи, свързани с изясняване на ролята на някои семинално плазмени протеини в процеса на криоконсервация; криоконсервация след отстраняване на спермалната плазма, посредством изпитване на различни режими за центрофугиране и отношението към активността на сперматозоид-специфичните ензими; криоконсервация чрез изпитване на ефекта на биологично активни субстанции (прибавяне на витамини А, Д₃ и Е), добавяни след процеса на еквилибрация; криоконсервация посредством изпитване на методика за двустепенно разреждане на спермалната течност; криоконсервация посредством изпитване на ефекта на обема и вида на разфасовките при замразяване и изследване на режима на размразяване и биологичната роля върху морфологията и функционалната активност на сперматозоидите. Така поставените задачи са формулирани точно и произтичат логично от поставената цел.

Материали и методи. За изпълнение на задачите са използвани 80 яекулата от мъжки кучета на възраст 2 до 12 години. Допълнително са осигурени биологични материали от софийски зоопарк, клиниките на ЛТУ и ветеринарна клиника „Вивавет“ със съгласие на стопаните на кучетата.

Извършените анализи са реализирани в лабораториите на ИБИР към БАН. За отбелязване е, че в процеса на криоконсервацията са включени само еякулати с тотална подвижност на сперматозоидите над 70%.

За изпълнение на експерименталната работа са използвани достатъчно на брой съвременни методични единици.

Статистическият анализ и графичното представяне на получените резултати са извършени чрез Statistica v.6.0, Inc.

Резултатите и дискусията, както вече споменах, с достатъчно на брой таблици и фигури, са най-обемистата, най-съществената и впечатляваща част от дисертационния труд. В тази част са представени подробно и задълбочено анализирани получените от автора резултати. Налице е висока компетентност и целенасочена интерпретация на многобройните цифрови показатели от експерименталната работа по дисертацията. Прави впечатление стриктната последователност на изложените данни, които по един безспорен начин свидетелстват за реално извършена практическа и научно-изследователска работа със статистически доказани разлики. Трудно мога да посоча

всичко, тъй като информацията е многообразна и високо съдържателна, поради което ще обобща няколко ключови примери.

Посредством сравнителен анализ чрез високоефективна течна хроматография (HPLC) на семиналноплазмени белтъци при еякулати с добри спермални параметри и такива с влошени е установено наличие на 4 основни пика. При това основната разлика в профилите е наличието на белтъчни молекули с по-висока молекулна маса в спермалната плазма на еякулатите със задоволителни характеристики. При електрофоретичното изследване тези белтъци са визуализирани и се установяват високомолекулни белтъци с маса над 65 кДа (килодалтона). Еякулатите с лошо качество показват ниска интензивност на визуализация на първи пик. Следователно в случая намалява активността на високомолекулните протеини с тегло между 65 кДа и 216 кДа.

Установено е, че криоконсервацията не оказва негативно влияние на ензимите алкална фосфатаза, креатинкиназа и лактатдеhidрогеназа. За отбелязване е и факта, че е по-подходящо криоконсервацията на кучешка сперма да се извършва без сепариране на спермалната плазма. Следва да отбележа, че дисертантът стига до извода и посочва конкретни дози на трите витамина които запазват биологичните характеристики на спермата от куче след нейната криоконсервация. Параметрите на компютърно-асистираня спермоанализ се подобряват при замразяване с технология за двустепенно разреждане. При това се посочва, че добавянето на глицерин преди криоконсервацията за не повече от 20 min, е достатъчно време за изравняване на разреждателя.

Установено е, че най-подходящ режим за размразяване на кучешка сперма, замразена в обем 0,6 ml. в криофиолки от 2 ml., е температура 65⁰C до изчезване на твърдата фаза и увеличаване на температурата на водната баня на 40⁰C за 3 до 5 min.

Оценявам този раздел като богат на експериментални резултати, многоспектърен, с голяма степен на анализ и обобщеност, ценна фундаментална и практична стойност, както и насочено информативен и разкриващ големия потенциал на изследванията.

В заключението са представени и обобщени основните резултати от дисертационната разработка и тяхното значение за науката и практиката. Получените резултати и направените изводи и препоръки са сериозна основа за бъдещи изследвания за нуждите на практическото приложение на технологията за криоконсервация на гамети от кучета.

Изводите, които са 7 на брой, са конкретно и коректно формулирани, отразяват получените резултати и като цяло съответстват на поставените цел и задачи.

Приносите са общо 6 на брой, от които 2 броя с научен характер и 4 броя с практически приложен характер.

Литературният указател обхваща 219 заглавия, от които 4 на кирилица и 215 на латиница.

Забележки и препоръки към дисертационния труд

Независимо от силата на свидетелствата, свързани с актуалността на изследваните проблеми, незначителните празноти в литературата, правилната постановка и конкретното изпълнение на експерименталната работа, ще си позволя да посоча някои забележки и препоръки, които не трябва да бъдат тълкувани като несъгласие от моя страна за бъдещата работа на г-н Кирил Лазов.

1. В раздел „Материали и методи“ са отбелязани общия брой еякулати от мъжки кучета, без да е посочен броя на изследваните животни.

2. На определени страници са допуснати незначителен брой правописни грешки.

3. В някои от цитираните литературни източници са допуснати непълноти.

4. Препоръчвам на автора да продължи тези интересни изследвания и при други видове от род *Candidi*.

Авторефератът е изготвен съгласно изискванията и макар и в съкратен вид, точно отразява получените резултати и дава ясна представа за дисертационния труд.

Заклучение

В заключение ще отбележа, че извършената експериментална работа, е достатъчна по обем и отговаря на изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Р България. Проучвайки актуални проблеми по криоконсервация на сперма от кучета, Кирил Лазов е показал литературна осведоменост, правилен методичен подход, коректност и аналитична способност при представяне и обсъждане на получените резултати. Изложеното от мен ми дава достатъчно основание да оценя положително постигнатото в дисертационния труд и да препоръчам на почитаемите членове на Научното жури да гласуват „За“ присъждане на образователна и научна степен „доктор“

на Кирил Йорданов Лазов по научна специалност „Развъждане на селскостопански животни, биология, биотехника на размножаването“; Научно направление ш.6.3. „Животновъдство“; Област на висше образование ш.6 „Аграрни науки и ветеринарна медицина“

16.02.2024 г.

Стара Загора

Рецензент:



/проф. Бойчо Биволарски/