

РЕЦЕНЗИЯ

от доц. Албена Владимирова Александрова, доктор,
Институт по Невробиология - БАН, член на Научно жури, съгласно
заповед №52/17.08.2020 г. на Директора на Институт по биология и
имунология на размножаването „Акад. Кирил Братанов“ - БАН относно
дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен
„Доктор“

Тема: „Изследване влиянието на породните особености при овце
върху криотолерантността на сперматозоидите “

Автор: ас. Мадлена Нанева Андреева

Научната специалност: „Развъждане на селскостопански животни,
биология и биотехника на размножаването“

Област на висше образование: 6. - Аграрни науки и ветеринарна
медицина“, професионално направление 6.3. “Животновъдство“, Шифър:
04.02.01 „Развъждане на селскостопански животни, биология и биотехника
на размножаването“

Форма на докторантурата: задочна

Научен ръководител: доц. д-р Росен Стефанов

Научен консултант: доц. д-р Никола Методиев

1. Общо представяне на докторанта

Ас. д-р Мадлена Андреева завършва средно образование в СОУ
"Отец Паисий", гр. Враца през 2010 г. През 2016 г. завършва ОКС
„Магистър“, специалност „Ветеринарна медицина“ в Лесотехнически
университет - гр. София. От 2016 г. е назначена в Институт по биология и
имунология на размножаването "Акад. Кирил Братанов" - БАН като
ветеринарен лекар – лабораторен, а в последствие - като асистент в секция
"Ембриобиотехнологии при животните" на същия институт. От 01.01.2017
г. е зачислена като докторант, задочна форма на обучение.

2. Структура на дисертационния труд

Дисертационният труд на ас. М. Андреева е разработен в обем от 146
стандартни страници и следва общоприетия за този вид научни трудове
модел, съдържайки: Въведение (2 стр.), Литературен обзор (34 стр.), Цел и
задачи (1 стр.), Материал и методи (14 стр.), Резултати (41 стр.), Дискусия
(18 стр.), Заключение (3 стр.), Изводи (2 стр.), Приноси (1 стр.), Препоръки
за практиката (1 стр.), Библиография (26 стр.). В текстовия материал е

включен Списък на научни публикации, участия и проекти във връзка с темата на дисертационния труд (2 стр.). Трудът е онагледен с 30 фигури, 14 таблици и 18 снимки. Литературният обзор на дисертацията е добре балансиран с описанието и интерпретацията на собствените резултати. Използваната литература се състои от 212 източника, от които 19 на кирилица и 193 на латиница. Повечето от цитираните източници са от последните 10 години.

3. Актуалност на тематиката

Представеният дисертационен труд на ас. Андреева е насочен към изследване на влиянието на породните особености при овце върху криотолерантността на сперматозоиди от кочове.

Овцевъдството от най-дълбока древност е основен източник на препитание за човечеството и по настояще продуктите от този отрасъл имат водещо значение като суровини за хранително-вкусовата, кожарската и текстилната индустрия. Благоприятните природо-климатични условия в България са естествена предпоставка за развитие на овцевъдството и утвърждаването му като важен фактор на икономиката в страната. Въпреки, че страната ни заема едно от челните места в света по броя на аборигенните си породи овце, поради редица социално-икономически фактори съществува риск за изчезването на някои от тях. Така, запазването на генетичен материал от местни породи овце с доказани качества, вкл. и по-добра приспособимост към българските климатични особености, както и поддържане на биоразнообразието, налага прилагане на метода на криоконсервация. Това определя темата на дисертационния труд като особено актуална. Известно е, че при обработката на семенния материал и криоконсервация настъпват различни химични модификации на биомолекулите, които могат да доведат до влошаване на тяхната оплодителна способност. Тежестта на тези увреждания може да зависи от породните различия, поради което са необходими познания за податливостта на сперматозоидите на кочове от различни породи към увреждания и очертаване на насоки за предпазване. Дисертационният труд има съществен принос към изясняване на тези въпроси.

4. Познаване на проблема

Направеният литературен обзор, показва, че дисертантката е добре запозната с научните публикации и изследванията по проблема и показва умение за обобщаване на наличната информация и търсене на неизяснени

и проблемни въпроси, които представляват интерес за решаване с практическа насоченост.

Литературният обзор запознава със състоянието на овцевъдството в България през последните 30 години и посочва отглежданите в страната чуждестранни и местни породи овце като очертава измененията в популационната структура. Подробно е представена информация за създаването, селекционния процес на местна основа и предназначението на породите, които са предмет на настоящето проучване. Материалът е много добре онагледен с подходящ снимков материал. В обзора е разгледана репродуктивната физиология при кочовете и методите за анализ на спермата. Тези въпроси са добре известни и имат пропедевтичен характер, поради което можеше да бъдат ограничени и дори избегнати в дисертационния труд. Интерес представлява и дава ценна информация обобщеният анализ за прилагането на нови методи за подобряване на криоконсервацията на сперма и репродуктивната ефективност при кочове. Описани са детайлно използвани в науката и практиката криопротектори и сперморазредители. Ас. Андреева уместно засяга и въпроса за индуциране на оксидативен стрес при манипулирането, вкл. замразяване/размразяване на спермата. Очертани са причините за възникване на оксидативен стрес, подробно е представена ендогенната антиоксидантна защита и възможностите за прилагане на екзогенни антиоксиданти с цел предотвратяване или намаляване на уврежданията в структурата и функциите на генетичния материал и в мембраната на сперматозоида и акрозомата. Това от своя страна ще доведе до намаляване на генетичните изменения и подобряване на оплодителните качества на спермата. Дисертантката обръща внимание на биохимични компоненти и ензими в сперматозоидите и семенната плазма, оценката на които може да използва като биологични маркери за качеството на спермата, тъй като техните стойности определят целостта и функцията, и съответно степента на увреждане на сперматозоидите. По този начин, литературният обзор към дисертационния труд, въвежда логично към изследователската цел, която ас. Мадлена Андреева си е поставила.

5. Цел и задачи

Целта на настоящата работа е да се проучи влиянието на породата върху криотолерантността на сперматозоиди от кочове. На базата на поставената цел са формулирани адекватно и ясно четири задачи за изпълнение: 1) Изследване на спермалните показатели (мотелитет,

вита̀лност, морфология) преди замразяване и след размразяване; 2. Проучване на антиоксидантната ензимна защита на сперматозоидите от изследваните породи кочове чрез определяне активността на супероксид дисмутаза (SOD) и каталаза (CAT) преди замразяване и след размразяване на еякулатите; 3. Изследване нивата на липидна пероксидация чрез определяне на концентрацията на малон диалдехид преди замразяване и след размразяване на еякулатите. 4. Определяне на активността на ензимите - лактат дехидрогеназа (LDH) и гама-глутамил трансфераза (γ GT) преди замразяване и след размразяване на еякулатите

Тези задачи дават възможност за получаване на съпоставими с наличните в литературата данни, адекватно анализирани на резултатите от проведените в дисертационния труд експерименти и извеждане на конкретни изводи, основа за формулиране на научно обосновани насоки за оптимизиране на процеса на криоконсервация на базата на комплексна оценка на параметрите, засягащи оплодителната способност на сперматозоидите.

6. Методически подход

Обект на изследване е значителен брой животни - 56 коча от четири различни породи (Ил дьо Франс – 15 коча; Лакон – 14 коча; Синтетична популация българска млечна – 15 коча; Софийска (Елинпелинска) – 12 коча), от три животновъдни обекта. Изследванията са провеждани в продължение на 3 години. Подходите и методите са избрани целенасочено според поставените задачи. Методиката на изследване включва получаване и транспортиране на биологичен материал, макро- и микроскопско изследване на спермата, криоконсервация, биохимични анализи за оценка на оксидативния статус на сперматозоидите и активност на ензимите лактат дехидрогеназа (LDH) и гама-глутамил трансфераза (γ GT) преди замразяване и след размразяване на еякулатите. От подробното описание на всяка стъпка от обработването и анализа на пробите, е видно, че добре е усвоен приложеният широк набор от съвременни биохимични и статистически методи.

7. Значимост и убедителност на получените резултати, интерпретациите и изводите

Резултати

Получените данни са резултат от задълбочено изследване на ефекта на криоконсервацията върху важни спермални характеристики (мотилитет и скоростните параметри, среден обем и концентрация, вита̀лност и

морфология), оксидативния статус на сперматозоидите и активността на LDH и γ GT в еякулати от кочове от четири породи. Те са описани подробно и пълно, обработени са статистически с подходящи методи. Направен е корелационен анализ на изследваните параметри. Това дава възможност за оценка на 1) разликите между изследваните породи по отношение на изследваните показатели; 2) влиянието на криоконсервацията върху изследваните показатели и 3) междупородната зависимост на потенциала за замразяване и размразяване на сперма от кочове. Изключително добро впечатление прави снимковото представяне на резултатите. Има повторение на данните в графиките и таблиците; би трябвало да се обедини представянето или да се избере или графичния или табличния вид. Графиките са добре оформени с правилни означения по абцисната и ординатната ос, съответстващи легенди на цветовете представяния и означени достоверни разлики. Всички цифрови стойности в текста, таблиците и графиките са придружени с правилните мерни единици. Няма разминаване между номерацията, заглавията и графично или таблично представените резултати.

Дискусия

Дискусията е разделена на няколко части, следвайки отделните задачи на дисертационния труд. В тази част на дисертацията ас. Мадлена Андреева се представя като изследовател, който умее да борави с литературни данни, да сравнява собствените резултати с тях и да прави логически разсъждения. Докторантката показва добър усет към подбора на изследвания, сравними с нейните и способност за анализ и обобщение. Използваните литературни източници са цитирани коректно в текста с добро отграничаване от собственото изложение. Има частично повторение на резултатите и методологичните стъпки.

Изводи

Като резултат от проведените изследвания и анализи са изведени 6 извода с потвърдителен характер и 5 извода с оригинален характер. Изводите с потвърдителен характер сочат добрата работа на докторантката и определят достоверността на изводите с оригинален характер. Намирам, че тези изводи логически произтичат от получените резултати и приемам формулировките на изводите.

8. Характер на научните приноси

Докторантката е формулирала два научни приноса, свързани с оксидативния статус на сперматозоиди от автохтонната българска порода -

Софийска (Елинпелинска) преди замразяване и след размразяване и международната вариабилност на антиоксидантната им ензимна защита. Според мен, научните приноси от изследванията в дисертационния труд са по-широки и имат приложен характер в две направления – създаване на база данни за спермалните показатели на кочове от четирите изследвани породи, и установяване на потенциала на еякулатите им за замразяване и размразяване. Тези данни могат да подпомогнат ефективно животновъдите в разработване на ефективна технология за консервация на сперматозоиди от кочове с цел съхраняване на видовото разнообразие. По същество приемам представените научни приноси.

9. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Към дисертационния труд са представени 4 научни статии, касаещи резултатите от разработката на труда. И четирите публикации са с първи автор Мадлена Андреева, което демонстрира определеният ѝ личен принос за проведените изследвания и тяхната интерпретация. Една от публикациите е в списание с импакт фактор. Докторантката е представила резултатите си на 4 научни форума, два от които извън страната. Ас. Андреева е участвала в проекта и изследванията в разработения дисертационен труд са осъществени с тяхна подкрепата. Като цяло, докторантката е разработила значим изследователски труд, който доказва задълбочените ѝ познания и интереси в областта на биологията, развъждането на селскостопанските животни, вкл. биотехника на размножаването им.

10. Автореферат

Представеният автореферат отговаря на изискванията. Той отразява съдържанието на дисертацията като включва основните моменти на проучването с представени информативни таблици и фигури от дисертацията, формулираните изводи и приноси на труда, приложен е списък с публикациите по темата на дисертационния труд.

11. Критични забележки и препоръки

Критичните забележки, направени в хода на рецензиране на дисертационния труд, са свързани с пропуски от технически характер и в никакъв случай не омаловажават работата, получените резултати и направените изводи. Като препоръка бих предложила дисертационните резултати и направените препоръки да бъдат конкретно прилагани в животновъдната практика. Би било добре да продължи по-нататъшно изучаване и разширяване на тази перспективна проблематика, като

получените резултати да бъдат разпространени както чрез публикуване в реферирани списания с импакт фактор или импакт ранг, така и чрез други медии, за да станат достояние на заинтересованите лица.

12. Въпроси към докторанта

Към докторантката имам следните въпроси: Възможно ли е само чрез измерване на активността на антиоксидантните ензими да се направи заключение за оксидативния статус на сперматозоидите и да се предвиди оплодителната им способност? Кой/кои от изследваните показатели са с най-висока информативна стойност за състоянието на еякулата и оплодителната му способност?

Заключение

В заключение считам, че проучването е върху актуален проблем, проведено с адекватни методики. Трудът съдържа оригинални резултати и има съществен принос за животновъдната практика. Трябва да се отбележи, че докторантурата е стартирала преди влизането в сила на Закона за изменение и допълнение на ЗРАСРБ и в съответствие с §40 от Преходните и Заключителни разпоредби на този закон процедурата протича по условията и реда на предходните такива. Считам, че така представеният труд и публикационната дейност на докторанта напълно покрива изискуемите количествените показатели и отговоря на ЗРАСРБ, Правилника за приложението му, Препоръчителните критерии на БАН и Наредбата за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“ в ИБИР-БАН. Това ми дава основание да предложа на уважаемите членовете на Научното жури да гласуват с **положителен вот** за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ в професионално направление 6.3. „Животновъдство“ Шифър: 04.02.01 „Развъждане на селскостопански животни, биология и биотехника на размножаването“ на докторантката Мадлена Андреева.

Гласувам с **положителен вот**.

11.10.2020 г.

Рецензент: (п)

Доц. Албена Александрова, доктор