

Институт по биология и имунология на размножаването - БАН
Вх. № 178-40/15.03.2020

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Петя Колева Славова,

Земеделски институт – Стара Загора, научна специалност „Развъждане на селскостопанските животни, биология и биотехника на размножаването“

Относно: дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ по научна специалност шифър 04.02.01 - „Развъждане на селскостопански животни, биология и биотехника на размножаването“, професионално направление 6.3. „Животновъдство“ и област на висше образование ш.б. Аграрни науки и ветеринарна медицина в Институт по биология и имунология на размножаването „Акад. К. Братанов“ гр. София.

Основание за представяне на рецензията: участие в състава на Научно жури по защита на дисертационен труд, съгласно Заповед № 102/18.12.2020 г. на Директора на Института по биология и имунология на размножаването „Акад. Кирил Братанов“ към БАН

Автор на дисертационния труд: Цветан Стефанов Цветков, задочен докторант към секция „Репродуктивни биотехнологии и криобиология на гаметите“ в ИБИР

Тема на дисертационния труд: „Определяне на семинално плазмени протеини свързани с процеса на капацитация“

Научен ръководител: Доц. д-р Деница Даскалова

Информация за дисертанта

Дисертантът се е обучавал по докторска програма към секция „Репродуктивни биотехнологии и криобиология на гаметите“ при ИБИР, по научната специалност „Развъждане на селскостопански животни, биология и биотехника на размножаването“, Професионално направление 6.3. „Животновъдство“ и област на висше образование ш.б. Аграрни науки и ветеринарна медицина.

Обучението е осъществено в задочна форма през периода 2017-2020г.

Кратка биографична справка: Цветан Стефанов Цветков завършва бакалавърска степен по „Молекулярна биология“ в Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“, гр. София през 2014 г. През същата година започва магистратура в СУ „Св.

Климент Охридски“- специалност „Биология на развитието“. От 2015г. е дипломант в Института по биология и имунология на размножаването-„Акад. Кирил Братанов“- БАН, в секция „Репродуктивни биотехнологии и криобиология на гаметите“. През 2016г. успешно защитава дипломна работа на тема: „Изследване на различията в криотолерантността на фракционно получени сперматозоиди от кучета“ по специалност „Биология на развитието“ и е назначен за асистент. През Януари 2017г. полага успешно кандидат-докторантски изпит и е зачислен като задочен докторант с тема на дисертационния труд „Семинално плазмени протеини, свързани с процеса на капацитация“. По време на докторантурата си Цветан Цветков ръководи и успешно защитава проект по програма „Млади учени и докторанти“- БАН, 2017г. /ДФНП 17-28/, на тема „Определяне на семинално плазмени протеини при вида *Canis lupus familiaris*, оказващи ефект върху сперматозоидите при *in vitro* индуцирана капацитация“. През 2018г. докторантът печели финансиране по проект „Млади учени и постдокторанти“- МОН, 2018-2020г., на тема „Охарактеризиране на протеиновите молекули в семиналната плазма и проследяване на въздействието им по отношение на процесите на хиперактивация, капацитация и декапацитация“. В периода 2018-2020г. Цветан Цветков е част от научния екип по Национална научна програма „РЕПРОБИОТЕХ“.

Обща характеристика на представения дисертационен труд

Актуалност на тематиката:

Интензификацията на размножителния процес и прилагането на репродуктивни биотехнологии придобиват все по-голямо значение при развъждането на селскостопанските животни. Това важи с по-голяма сила при провеждане на осеменителната кампания чрез изкуствено осеменяване, което е свързано с по-добра подготовка на мъжките разплодници и осигуряване на оптимални условия за правилно протичане на процеса на заплъждане. В тази връзка изучаването на ролята и функцията на семиналната плазма (СП) и по - специално на семинално плазмените протеини (СПП) в нея е необходимо и полезно не само от научна, но и от приложна гледна точка. Максималното опазване на биологичния потенциал на гаметите налага провеждането на експерименти за подобряване на различните среди за съхранение, криоконсервация, капацитация, както и разработването на нови такива, съдържащи субстанции с ефект върху семиналната плазма и ефективно провеждане на оплождането. Посочените аргументи определят тематиката като актуална и обосновават необходимостта от провеждане на настоящото проучване.

Научна теза: Представената научна теза третира възможността чрез изучаване ролята и влиянието на семинално плазмените протеини върху биологичните параметри на сперматозоидите, водещи до подобряване на хиперактивността и капацитацията, да се

създадат подходящи условия за протичане процеса на оплождане. Все още няма достатъчно пълна информация за състава и биологичната функция на семенната плазма и съдържащите се в нея плазмени протеини, които имат пряка връзка с различни физиологични процеси, засягащи метаболизма и оплодителния капацитет на мъжките гамети. Всичко това има отношение не само към осигуряване на подходящи условия за протичане на оплождането, но и към установяване на редица заболявания и плодовитостта при селскостопанските животни. Удачно е избран и обекта на изследване – кучета, които са един от най-добрите експериментални модели за сравнителни проучвания с хора, поради сходството на съответните им принадлежащи полови жлези и нарастването на простатата.

Структура и обем: По структура и обем научният труд отговаря на изискванията за дисертация за ОНС „Доктор“. Тя е написана на 141 стр., включвайки всички необходими раздели – увод /1 стр./, литературен преглед /35 стр./, цел и задачи на изследването /2 стр./, материал и методи /21 стр./, резултати и обсъждане /36 стр./, изводи /1 стр./, препоръки /1 стр./, приноси /1 стр./, литература /35 стр./ и списък на публикациите във връзка с дисертационния труд /1 стр./, участие с научни разработки в научни форуми /2 стр./ Представени са 14 таблици и 34 фигури.

Има представен списък на използваните съкращения, което е положително.

Увод: Уводът на дисертацията е целенасочен и е пряко свързан с темата. В него е посочена актуалността и необходимостта на провежданото проучване, като прави естествен преход към литературния обзор и разработването на темата.

Литературен преглед: Представен е много добре. Направен е подробен анализ на състоянието по темата, по-точно за ролята на семиналната плазма и по - конкретно влиянието на съдържащите се в нея протеини върху различни биологични и физиологични процеси, свързани с функционалността на сперматозоидите.

Подробно са описани функциите на семиналната плазма и нейния състав – неорганични и органични елементи, ензими, въглехидрати, липиди, които участват в метаболитните процеси на гаметите, както и химическия състав и функция на секретите от допълнителните полови жлези. Посочени са особеностите на СП и семинално плазмените протеини при *Canis lupus familiaris*. Голяма част от литературния обзор включва описанието на сперматозоида, процесите на капацитация, хиперактивация и декапацитация, както и влиянието на различни органични и неорганични елементи върху тях. Всичко това е направено при използването на много литературни източници от различни изследователи, поради което анализът и обсъждането са отразени пълно, компетентно и професионално. Литературният обзор е добра мотивировка за проведеното проучване и анализ на получените резултати.

Цел и задачи: Целта е формулирана точно, ясно и съответства на темата. За осъществяването ѝ са поставени 4 основни задачи и 9 подзадачи, които обхващат изцяло необходимите аспекти на научното изследване.

Методична постановка: Разделът включва необходимата информация за обекта на проучване; изследваните показатели; процесите от събиране на семенния материал, подготовка и провеждане на анализите до получаване на резултатите. Посочени са използваните методики и апаратурата, както и софтуерните програми за обработка на данните, които са стандартни и съвременни. Всичко това е съпроводено с много нагледни материали – фигури и схеми, илюстриращи проучваните процеси.

Резултати и обсъждане: Разделът е разработен в 4 раздела с подраздели и съответстват на поставените задачи. Изследвани са морфология, тотална концентрация, подвижност и кинетични CASA-параметрите на сперматозоиди от свежи еякулати. Проведено е хроматографско разделяне на протеините от семиналната плазма от кучетата, които се отделени в 4 фракции според молекулната маса и дължината на вълната. Анализирани са получените протеини в отделните фракции, като е направено спектрофотометрично определяне на белтъчното съдържание във всяка от тях. Изследвана е ролята на семинално плазмените протеини върху биологичните параметри на сперматозоиди от куче при условия на *in vitro* индуцирана капацитация на 1-я и 2-я час и са проследени промените в кинетичните параметри. Изследван е декапацитация ефект на семинално плазмените протеини върху мотилитета, скоростта на сперматозоидите и кинетичните параметри.

Получените резултати от проведените проучвания са подробно интерпретирани и онагледени в подходящо представените таблици и фигури. Направени са много съпътстващи анализи, които оценявам по достойнство. Това е илюстрация за голямата литературна осведоменост и професионална компетентност на дисертанта. Те са показател и за усвояването и прилагането на методики при провеждане на научните експерименти, която е една от целите на обучението в докторантура в частта ѝ образователна степен.

Литература

Представена е богата литература по тематиката на дисертационния труд. Включени са 329 изследвания на автори, от които 327 на английски и 2 на български. Големият обем използвана литература е показател за голямата информационна и научна осведоменост на докторанта, която успешно е представена в литературния обзор и при интерпретиране на получените резултати като съпътстващи анализи.

Обща оценка на дисертационния труд

Изпълнение на поставените цел и задачи: Получените резултати и представения анализ в дисертационния труд показват, че поставената цел и задачите към нея за

изпълнени. От тях са формулирани 4 извода, които логично следват от извършените изследвания и направеното обсъждане.

Оценка на получените научно и научно-приложни резултати

Разделянето на протеините в семиналната плазма на 4 фракции в зависимост от молекулната маса и тяхното изследване са добра база за установяване влиянието им върху мотилитета, скоростта и кинетичните CASA-параметри на сперматозоиди от куче. Установено е, че високо молекулните протеини от фракция 1 с ММ от 68 кДа и рI 5.65; 75 кДа и рI 6.8; 76 кДа и рI 6.91; 77 кДа и рI 7.58; 78 кДа и рI 7.77 оказват най-съществен и доказан ефект. Те водят до хиперактивност на половите клетки, като повишават техните показатели за VCL и непрогресивност.

След проведените морфологичните изследвания се отчита, че високо молекулните протеините от фракция 1 индуцират капацитация и водят до нарастване на процента на сперматозоиди с набъбнала акрозома в сравнение с другите изследвани проби. Доказано е, че съдържащите се спермално плазмени протеини с ниска молекулна маса във фракция 2 оказват декапацитиращ ефект върху сперматозоидите от куче и водят до намаляване на основните скоростни и кинетични CASA-параметри (VCL, ALH, WOB и BCF).

Направените изследвания в дисертационния труд са добра база за задълбочаването им в посока конкретизиране на протеините от съответните 4 фракции, което ще предостави по-точка информация и би рефлектирало върху създаването на по-добра биологична среда за протичане на процеса на оплождане.

Оценка на научните и научно-приложни приноси

В дисертационния труд не са приложени приноси, но са направени предложения за внедряване в практиката, които могат да се приемат и като такива.

Проучванията в сферата на протеомиката на семиналната плазма могат да се отнесат към фундаменталните изследвания, понеже проследяват основни физиологични и биологични механизми, касаещи протичане на капацитационните и декапацитационните изменения в мъжките гамети, имащи отношение към протичане на оплождането.

Получените резултати, направените анализи и формулираните изводи от изследването на протеините от семиналната плазма и техния ефект върху капацитацията и хиперактивацията на сперматозоидите могат да се използват в средите за *in vitro*-индуцирана капацитация и криоконсервация и да послужат като маркер за оплодителна способност. Това би било съществено предимство при селекцията на мъжки разплодници при селскостопанските животни.

Установеното влияние на високомолекулните белтъчни комплекси в семиналната плазма върху мъжките полови клетки дава информация и възможност за тяхното използване като протектиращи фактори в среди с неблагоприятно влияние спрямо

мъжките гамети и могат да бъдат приложени за подобряване на редица среди за съхранение, както и на среди за култивиране след размразяване на сперматозоиди.

Обобщавайки казаното по-горе, си позволявам да определя научния труд като актуален с елементи на оригиналност, научна и научноприложна стойност.

Оценка на публикациите

По дисертационния труд са представени 3 научни статии, в две от които дисертантът е водещ автор, а в третата е на второ място. Те са публикувани в Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences, издание на БАН и Journal of BioScience and Biotechnology, издание на ПУ „Паисий Хилендарски“. Списанията са реферирани и индексирани и общия $IF=0,502$. Докторантът е участвал в 11 научни форуми с разработки в колектив, в който е първи автор.

Оценка на автореферата. Авторефератът отговаря на изискванията и представя в резюмиран вид дисертационния труд. Написан е на 44 страници и включва основните раздели на дисертацията – увод, цел и задачи, материал и методи, резултати и обсъждане (с 14 таблици и 18 фигури), изводи, предложения за внедряване в практиката, публикации по дисертацията и участие в научни форуми.

Критични бележки, препоръки и въпроси

Към представеният ми за рецензиране дисертационен труд имам следните бележки и препоръки:

Съдържанието е много кратко, разширяването му по тематиката на дисертационния труд би било в полза на научното жури при написването на рецензии и становища и на проявяващите интерес към разработваната тематика.

По отношение на структурата на дисертационния труд: Разделите „Литературен обзор“ и „Материал и методи“ са обширни, а „Резултати и обсъждане“ е ограничен. Вероятно това е свързано с изискванията, приети в ИБИР към БАН за разработване на дисертационен труд, още повече, че той е бил обсъждан на заседание на научно звено в Института.

В раздел „Резултати и обсъждане“ има абзаци, които би следвало да се включат в раздел „Материал и методи“.

Има допуснати грешки и неточности от технически характер, на които няма да се спирам. Използвани са твърде много съкращения, което затруднява четенето на научния труд.

Всички тези бележки не намаляват научната стойност на предоставения ми за рецензиране дисертационен труд.

Изпълнени са двете цели на обучението в докторантура – образователна и научна. Докторантът илюстрира голяма професионална осведоменост по тематиката, усвояване и

прилагане на съвременни методи на изследване, като същевременно демонстрира професионализъм при провеждането на експериментите, анализа и обсъждането на получените резултати.

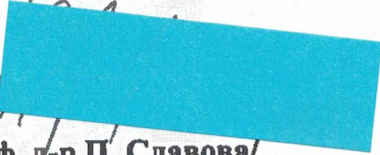
Заключение:

Дисертантът Цветан Цветков е извършил научно проучване с фундаментална, научна и приложна стойност. Проведените експерименти, компетентния анализ на получените резултати и вестината при тяхното систематизиране и формулиране на изводи, показват израстването му като добър изследовател и надежден специалист.

Представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и правилника за неговото прилагане за присъждането на образователната и научна степен „Доктор“.

Изразявам убедено своето положително мнение „За“ и си позволявам да призова почитаемото Научно жури да оцени по достойнство дисертационния труд, да гласува положително и да присъди ОНС „Доктор“ на Цветан Стефанов Цветков по научна специалност „Развъждане на селскостопанските животни, биология и биотехника на размножаването, в Професионално направление 6.3. Животновъдство и Област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина.

12.03.2021г.
гр. Стара Загора

Рецензент: 
/проф. д-р П. Славова/

hr-ibir@abv.bg