

СТАНОВИЩЕ

на представен дисертационен труд за получаване на образователна и научна степен „Доктор“ по научна специалност „Развъждане на селскостопански животни, биология и биотехника на размножаването“ (04.02.01.), професионално направление 6.3. „Животновъдство“, област на висше образование 6.0. „Аграрни науки и ветеринарна медицина“.

разработен от Десислава Георгиева Градинарска, задочен докторант към секция „Репродуктивни биотехнологии и криобиология на гаметите“ при Институт по биология и имунология на размножаването „Акад. Кирил Братанов“, Българска академия на науките с научен ръководител проф. д-р Мария Георгиева Иванова, дссн.

Тема на дисертационния труд : „Спермално плазмени протеини – роля в репродуктивния процес и нискотемператуно съхранение на сперматозоиди от кучета“

Изготвил становището : проф. д-р Наско Йовчев Василев, катедра „Акушерство, репродукция и репродуктивни нарушения“, Ветеринарномедицински факултет, Тракийски университет, Стара Загора, определен за член на научно жури съгласно заповед 1-НО от 09.01.2019 г. и заповед № 21 от 11.02.2019 г.

Кратки биографични данни

Десислава Георгиева Градинарска завършва висше образование: Магистър – Ветеринарен лекар в ЛТУ, Факултет по Ветеринарна медицина, София през 2009 г. По късно работи като ветеринарен лекар от 2009-2012 г. във ветеринарна амбулатория. През 2013 г. е назначена като асистент към секция

„Репродуктивни биотехнологии и криобиология на гаметите“ при ИБИР, БАН, от ноември 2018 г. е преназначена като специалист към същата секция, съгласно ЗРАСРБ и Правилника за приложение на ЗРАСРБ.

Зачислена за задочен докторант при ИБИР, БАН по научна специалност „Развъждане на с.с. животни, биология и биотехнологии на размножаването“ (04.02.01) от 01.10. 2014 г. с научен ръководител - проф. д-р Мария Георгиева Иванова, дсн. Отчислена с право на защита през 2018 г, заповед 371 от 12.09.2018 г.

Актуалност на проблема :

Темата на дисертацията е актуална и доказано необходима за научното знание в областта на репродукцията при различните животински видове. Направеният литературен анализ на изследванията до момента показва, че интереса към прилагане на репродуктивните биотехнологии, чрез изкуствено осеменяване на кучета е особено голям в последните години. Очевидно е, обаче че все още има нерешени проблеми относно оценката на гаметите по техния оплодителен потенциал и успеваемостта от прилагането на контролирано размножаване.

Степен на познаване състоянието на проблема и творческа интерпретация на литературния обзор :

Изготвен е литературен преглед за състоянието на проблема, включващ данни за биологичните характеристики на спермата, както функцията, ролята и химичния състав на спермалната плазма и спермално плазменните протеини. Представена е специфичната биологична роля на основните спермални плазмени протеини чрез интерпретация на 245 литературни източници, от които 13 на кирилица и 232 на латиница, като близо 2/3 са от последните 5 – 7 години.

Подложена на анализ е информацията относно изолираните и характеризирани спермални плазмени протеини при мъжки кучета. Както при всички бозайници, така и при кучетата е разгледан въпроса за ролята на спермалната плазма и нейните компоненти имащи важна роля при подготовката на спермата за криоконсервация. Дисертантът е проследил влиянието на различните технологични аспекти в процеса на криоконсервация на семенната течност.

Цел, задачи, хипотези и методи на изследване. Съответствие на избраната методика на изследване с поставената цел и задачи на дисертационния труд :

Докторантът си поставя за цел да проучи възможността за прилагане на фракционно сепарирани еякулати, с оглед създаване на нова биотехнология за успешна криоконсервация на сперматозоиди от кучета, чрез оптимизиране на до сега известните методи за получаване, оценка и замразяване на еякулати от кучета. За реализиране на формулираната цел са дефинираните пет основни задачи и приложени четиринадесет метода на изследване. В голямата си част те са съвременни и даващи разнообразие и прецизност на получените резултати.

Включени в проучванията са 114 яекулата (цели и фракционирани) получени от 56 полово зрели и клинично здрави мъжки кучета, на възраст от 1.5 до 12 години и от 27 породи. Отделно са получени 20 яйчника при планова овариохистеректомия на 10 полово зрели и клинично здрави женски кучета, от смесена порода, на възраст от 2 до 8 години.

Онагледеност и представяне на получените резултати :

Получените резултати са представени по подходящ начин чрез 47 фигури, 8 таблици и 4 приложения..

Особено впечатление правят резултатите, свързани с CASA анализът, които потвърждават първоначалното впечатление за добро познаване на

работата с тази апаратура и прецизността на проведените изследвания. Не по маловажни са изследванията чрез хроматографски анализ на протеините от спермалната плазма. Впечатление прави направената характеристика на протеините от СП чрез SDS и 2D-PAGE електрофореза. Представената визуализация на протеините, от еякулати, получени фракционно чрез електрофоретични профили на разпределие по молекулна маса и изоелектрична точка на СПП е много високо достоверна и впечатляваща.

Извършената справка в MW pI Proteome –pI: Proteome Isoelectric Point Database и с резултатите от проведените изследвания се доказва, че СП при кучетата съдържа основно алкални протеини, придвижващи се при IEF към алкалния край на стрипа (-) и имащи pI при pH над 5.85. Получените данни са с важно научно-приложно значение и могат да намерят място при провеждане на бъдещи протеомни анализи на СПП при кучетата, с оглед подбор на подходящи стрипове и подобряване на протоколи за провеждане на IEF и двумерна електрофореза.

Представените резултати са интересни и предоставят възможности за подобряване на репродукцията при кучетата.

Обсъждане на резултатите и използваната литература :

Извършено е обсъждане на получените резултати, като са сравнявани с литературните данни. Прави впечатление, че получените резултати са нови и липсват литературни данни в тази насока. Докторантът се е постарал да направи свои интерпретации, които имат значение за ветеринарната практика.

Добро впечатление прави цялостната дискусия на получените резултати, съпоставени с изследванията на други автори, това говори за голямата задълбоченост, последователност и познаване на разработвания проблем. Всичко това допринася за ясното формиране на изводите и приносите на дисертационния труд.

Научни и научно-приложни приноси

Представените 6 извода и 4 приноса с научно-приложен характер, които в по голямата си част на нови и недокладвани до сега научната литература, позволяват да се обогатят научните знания в сферата на размножаването и развъждането на животните, по специално при кучета.

Направената оценка на върху *zona pelucida* прикрепящата способност на сперматозоиди, получени чрез фракционно получаване на еякулати от кучета, са свързани с прогнозиране на оплодителната способност на гаметите. Тези изследвания позволяват на докторанта да разработи технологичен подход за криоконсервация на сперма от кучета чрез прилагане на ускорено замразяване

Представя се нов оптимизиран подход при замразяването на сперма от кучета, който се състои в няколко неприлагани до сега стъпки, а именно: немеханично елиминирание на биологично непълноценни клетки и на СПП от F1 и F2, прилагане на модифицирана криопротективна среда KGT, използване на опаковка за замразяване в по-голям обем (500 μ l), прилагане на ускорено замразяване без допълнително използване на парите на течен азот или CO₂.

Приемам направените изводи и препоръки за практиката.

Оценка за степента на лично участие на докторанта

Изследванията са проведени добросъвестно поради което считам, че докторанта е обогатил своите теоретични познания и повишил практическите си умения в областта на репродукцията при кучетата.

Публикувани статии и цитирания

Резултатите от разработените задачи са включени в пет научни разработки, публикувани в рецензирани национални и международни списания. На четири от публикациите д-р Градинарска е първи автор. Посочено и едно цитиране на научна публикация № 4.

Има представен списък и на пет научни материала – доклади и постери, с които докторанта лично е участвал на научни форуми в България и чужбина, и е първи автор. Прави впечатление, че три от докладите са публикувани в списания с ИФ.

Представеният автореферат отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд.

Бележки

В раздел материал и методи представеното описание по точки 10 и 11 е твърде обширно и с елементи на литературен преглед.

Заключение

На основание на усвоените и приложени от докторанта различни методи на изследване, правилно изведените експерименти, направените обобщения и изводи считам, че представения дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение, което ми дава основание да го оценя Положително.

Позволявам си да предложа на почитаемото научно жури също да гласува положително и да присъди на Десислава Георгиева Градинарска научната и образователна степен „Доктор“ по научна специалност „Развъждане на селскостопански животни, биология и биотехника на размножаването“ (04.02.01), професионално направление 6.3. „Животновъдство“, област на висше образование 6.0. „Аграрни науки и ветеринарна медицина“

06.03.2019 г.

Проф. д-р Наско Василев