



**UNIVERZITET U NOVOM SADU POLJOPRIVREDNI
FAKULTET**

Department za veterinarsku medicinu



**UTICAJ PROTEINA SPERMALNE PLAZME NA KVALITET
EJAKULATA I PRODUKTIVNE REZULTATE PRIPLODNIH
NERASTOVA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Kandidat

Dr vet. med. Igor Zdraveski

Mentor

Prof. dr Ivan Stančić

Novi Sad, 2019.



UNIVERZITET U NOVOM SADU
Poljoprivredni Fakultet u Novom Sadu
Departman za veterinarsku Medicinu



KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Igor Zdraveski
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Dr Ivan Stančić , Vanredni profesor
Naslov rada: NR	UTICAJ PROTEINA SPERMALNE PLAZME NA KVALITET EJAKULATA I PRODUKTIVNE REZULTATE PRIPLODNIH NERASTOVA
Jezik publikacije: JP	Srpski
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	R. Srbija
Uže geografsko područje: UGP	AP Vojvodina
Godina: GO	2019
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Poljoprivredni Fakultet u Novom Sadu Departman za veterinarsku medicinu Trg D. Obradovića 8, 21000 Novi Sad

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja 9/ stranica 130 / slika 2 / grafikona 36 / tabela 56/ referenci 244 / priloga)
Naučna oblast: NO	Veterinarska Medicina
Naučna disciplina: ND	Reprodukcija domaćih životinja
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Reprodukcija , nerastovi, proteini spermalne plazme, produktivni rezultati.
UDK	636.09:330.31(043.3)
Čuva se: ČU	Biblioteka Poljoprivrednog Fakulteta u Novom Sadu
Važna napomena: VN	nema
Izvod: IZ	<p>Svinjarska proizvodnja predstavlja značajan segment stočarske proizvodnje. Ova značajnost ogleda se pre svega u činjenici da više od 50% potrošnje mesa u svetu predstavlja svinjsko meso. Upravo iz tih razloga velika pažnja usmerena je na unapređenje ove grane stočarske proizvodnje. Učinjeni su značajni pomaci u genetici stvaranjem novih visokoproduktivnih rasa (linija). Najbolji rezultati u proizvodnji svinja postižu se po sistemu uzgojno-priplodnih i reprodukciono-matičnih centara, utemeljenih na sistematskom oplemenjivačkom radu genetičara i selekcionara tokom više godina. Ovakav način proizvodnje svinja za priplod zastupljen je u zemljama sa vrlo razvijenim svinjarstvom (Danska, Poljska, Holandija, Švedska, Engleska i druge). Osnov genetskog unapređenja u svinjarstvu je definisanje jasnog odgajivačkog programa. Odgajivački programi u svinjarstvu, u proteklih nekoliko decenija doveli su do značajnog napretka u mnogim ekonomski važnim osobinama svinja. Uspeh u primeni tehnologije veštačkog osemenjavanja zavisi od identifikacije i selekcije nerasta čije su reproduktivne performanse, procenjene na osnovu libida, uspešnosti osemenjavanja i kvaliteta sperme, iznad proseka. Upravo je iz tih razloga neophodno poznavanje, ali i kontrola kvantitativnih i kvalitativnih osobina ejakulata nerasta. Intenzivno povećanje količine i kvaliteta svinjskog mesa, zahteva maksimalnu efikasnost reproduktivnog iskorištavanja genetskog potencijala superiornih nerastova. Sadašnja produkcija inseminacionih doza po ejakulatu, odnosno po nerastu godišnje, zootehnoški nije dovoljna, a ekonomski nije isplativa. Sadržaj spermalne plazme u ejakulatu, sve se čašće navodi kao važan faktor povećanja potencijalnog fertilizacionog kapaciteta spermatozoida. Smatra se da ejakulati sa većim sadržajem proteina imaju veću sposobnost</p>

	<p>visokog fertilizacionog potencijala spermatozoida. Analizom dobijenih rezultata ovog istraživanja, može se reći da proteini sa manjom molekulskom masom imaju pozitivan protektivni efekat na spermatozoide(10-20kDa), a da proteini molekulske mase od (21 do 40 kDa) imaju pozitivan efekat na fertilitet ejakulata. Rezultati istraživanja pokazali su da postoji povezanost između određenih proteinskih frakcija u spermalnoj plazmi koji direktno utiču na fertilizacionu sposobnost nerastova, što bi moglo poslužiti kao selekcijski marker u samom odabiru priplodnih nerastova.</p>
<p>Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP</p>	
<p>Datum odbrane: DO</p>	
<p>Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status)</p>	<p>Mentor : Dr Ivan Stančić, Vanredni profesor , Poljoprivredni Fakultet u Novom Sadu</p> <hr/> <p>Predsednik: Dr Slobodanka Vakanjac , Redovni professor Fakultet Veterinarske medicine u Beogradu</p> <hr/> <p>Član: Dr Saša Dragin, Vanredni professor, Poljoprivredni Fakultet u Novom Sadu</p> <hr/> <p>Član: Dr Zdenko Kanački Vanredni professor, Poljoprivredni Fakultet u Novom Sadu</p> <hr/> <p>Član: Dr Jelena Apić, Naučni Saradnik , Naučni institute za Veterinarstvo Novi Sad</p> <hr/>



UNIVERSITY IN NOVI SAD
Faculty of Agriculture in Novi Sad
Department of Veterinary Medicine



KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	
Author: AU	Igor Zdraveski
Mentor: MN	Dr Ivan Stančić , Associate Professor
Title: TI	DVM, PhD of Veterinary Medicine
Language of text: LT	English / Serbian
Language of abstract: LA	eng. / srp.
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	AP Vojvodina
Publication year: PY	2019
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Faculty of Agriculture in Novi Sad Department of Veterinary Medicine Trg D. Obradovića 8, 21000 Novi Sad.

Physical description: PD	(chapters 9 / pages 130/ photos 2 /references 244 / tables 56/ graphs 36/ Attachments / Biography.
Scientific field SF	Veterinary medicine
Scientific discipline SD	Reproduction of domestic animals
Subject, Key words SKW	Reproduction, boar, sperm plasma proteins, reproductive traits.
UC	636.09:330.31(043.3)
Holding data: HD	The Library of Agriculture Faculty, Novi Sad.
Note: N	None
Abstract: AB	Swine production is an important part of animal production. This significance is due to the fact that more than 50% of the world's meat consumption is pork. Therefore, large amount of effort is given to improve this branch of livestock production. Significant advances in genetics have resulted in creation of newly high productive breeds (lines). The best results in pig production are made using the system of the growing-breeding and reproduction centres, based on the systematic work of the geneticists and breeders over many years. This type of production is present in the countries with high level pig production (Denmark, Poland, Netherlands, Sweden, England and others). The basis of genetic advancement in pig farming is the definition of a clear breeding program. Breeding programs in pig production over the past few decades have led to significant improvement in many of the pig's economically important traits. The success in using the artificial insemination depends on the identification and selection of boars with above average reproductive performances, based on the libido status, insemination rate and sperm

	<p>quality. For that reason, it is of great importance the knowledge, but also the control of the qualitative and quantitative characteristics of the boar's ejaculate. Intensive increase in the quantity and quality of pork requires maximum efficiency of reproductive utilization of the genetic potential of superior boars. The current production of insemination doses per ejaculation, i.e. per boar over a year, is not enough and is not economically viable. The amount of sperm plasma in the ejaculate is more often considered as the important factor in increasing the potential fertilization capacity of the sperm. The ejaculates with higher protein content contain sperm with higher fertilization potential. The results of this study show that the proteins with low molecular mass (10-20kDa) have a positive protective role on the sperm, and the proteins with molecular mass of 21-40kDa have a positive role on the fertility of the ejaculate. The results show that there is a relation between some protein fractions in the sperm plasma that directly affect the fertilization ability of the boar and it can be used as a marker in the selection of the breeding boars.</p>
<p>Accepted on Senate on: AS</p>	
<p>Defended: DE</p>	
<p>Thesis Defend Board: DB</p>	<p>Comittee member: (Mentor) :</p> <p>Dr Ivan B. Stancic, DVM, PhD , Faculty of Agriculture, Novi Sad. Department of Veterinary Medicine.</p> <hr/>



	<p>Comittee member: (Primary supervisor - President)</p> <p>Dr Slobodanka Vakanjac, DVM, PhD, Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade</p> <hr/> <p>Comittee member:</p> <p>Dr Saša Dragin, DVM, PhD , Faculty of Agriculture, Novi Sad. Department of Veterinary Medicine.</p> <hr/> <p>Comittee member:</p> <p>Zdenko Kanački, DVM, PhD, Faculty of Agriculture, Novi Sad. Department of Veterinary Medicine.</p> <hr/> <p>Comittee member:</p> <p>Dr Jelena Apic, Research Associate, Scientific Institute of Veterinary Medicine Novi Sad.</p> <hr/>
--	--

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. CILJ I RADNE HIPOTEZE	3
3. PREGLED LITERATURE	5
3.1 ANATOMIJA I FIZIOLOGIJA REPRODUKTIVNIH ORGANA NERASTA	5
3.1.1. Semenici (<i>testisi</i>)	5
3.1.2. Pasemenik (<i>epididimis</i>).....	6
3.1.3. Semenovod (<i>ductus deferens</i>).....	6
3.1.4. Mokraćovod (<i>uretra</i>).....	6
3.1.5. Kopulacioni organ (<i>penis</i>)	6
3.1.6. Mošnica (<i>scrotum</i>)	6
3.1.7. Puzdra (<i>praeputium</i>)	7
3.1.8. Semeno uže (<i>funiculus spermaticus</i>)	7
3.1.9. Pomoćne polne žlezde (<i>glandulae accessories genitales</i>)	7
3.2. ENDOKRINI SISTEM	8
3.2.1. Gonadotropna osovina.....	8
3.2.2. Pubertet.....	10
3.3. ODGOJ NERASTA- SMEŠTAJ, ISHRANA I EKSPLOATACIJA.....	10
3.3.1. Ishrana i smeštaj priplodnih nerastova.....	11
3.3.2. Zdravstvene kontrole priplodnih nerastova	12
3.4. PRODUKCIJA SPERME	13
3.5. FAKTORI KOJI UTIČU NA PARAMETRE EJAKULATA	14
3.5.1. Frekvencija uzimanja sperme.....	15
3.5.2. Rasa nerasta	16
3.5.3. Starost nerasta.....	17
3.5.4. Godišnja sezona.....	19
3.6. REPRODUKTIVNE OSOBINE KRMAČA	22
3.7. KONTROLA KVALITETA SPERME	25
3.7.1. Makroskopski parametri ejakulata.....	25
3.7.2. Mikroskopski parametri ejakulata.....	27

3.8. UNAPREĐENJE OSOBINA PLODNOSTI NERASTA	31
3.9. SPERMALNA PLAZMA	32
3.10. FUNKCIJA (ULOGA) PROTEINA U SPERMALNOJ PLAZMI.....	33
4. MATERIJAL I METOD RADA	38
4.1. REPRODUKTIVNE PERFORMANSE NERASTOVA I KRMAČA U PROIZVODNIM ZAPATIMA	39
4.1.1 Reproductive performanse nerastova.....	39
4.1.2. Reproductive performanse krmača u proizvodnim zapatima	40
4.2. EKSPERIMENTALNA ISTRAŽIVANJA.....	40
4.2.1. Prvi eksperiment	41
4.2.2. Drugi eksperiment.....	45
4.2.3. Treći eksperiment	46
4.2.4. Četvrti eksperiment	47
4.2.5. Peti eksperiment.....	48
4.2.6. Šesti eksperiment.....	49
4.3. STATISTIČKA ANALIZA	50
5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....	51
5.1. REPRODUKTIVNA EKSPLOATACIJA	51
5.1.1. Reproductive performanse nerastova - Kvalitet ejakulata	51
5.1.2. Reproductive performanse krmača	57
5.1.3. Kvalitet ejakulata nerasta po uzrastu	63
5.1.4. Procentualna zastupljenost proteina različite molekulske mase	65
5.2. REZULTATI EKSPERIMENTALNIH ISTRAŽIVANJA	68
5.2.1. Prvi eksperiment	69
5.2.2. Drugi eksperiment.....	76
5.2.3 Treći eksperiment	82
5.2.4. Četvrti eksperiment	84
5.2.5. Peti eksperiment.....	94
5.2.6. Šesti eksperiment.....	102
6. DISKUSIJA	109
7. ZAKLJUČCI.....	122
8. LITERATURA.....	125

ZAHVALNOST

*Želim da se zahvalim svom mentoru, **prof. dr Ivan Stančić**, kao i članovima komisije, **prof. dr Slobodanka Vakanjac**, docentu **dr Saša Dragin**, **prof.dr Zdenku Kanačkom** i **docent.dr Jelena Apić**, za korisne savete, primedbe i svaku drugu pomoć tokom izrade ove disertacije.*

*Zahvaljujem se svojoj **porodici** za podršku, puno ljubavi i razumevanja, što mi je bilo jako potrebno tokom izrade ove disertacije.*

*Takođe se zahvaljujem i svim ostalim **kolegama i prijateljima**, koji su mi, na bilo koji način, pomogli da završim ovu doktorsku disertaciju.*

*Rad posvećujem svojim **najbližima, porodici i prijateljima** - onima koji to zaista i zaslužuju i bez kojih ne bih bio to što jesam.*

Novi Sad, decenbar, 2019.

Igor V. Zraveski

1.UVOD

Svinjarska proizvodnja predstavlja značajan segment stočarske proizvodnje. Ova značajnost ogleda se pre svega u činjenici da više od 50% potrošnje mesa u svetu predstavlja svinjsko meso. Upravo iz tih razloga velika pažnja usmerena je na unapređenje ove grane stočarske proizvodnje. Učinjeni su značajni pomaci u genetici stvaranjem novih visokoproduktivnih rasa (linija). Primena veštačkog osemenjavanja imala je značajan uticaj na genetsko unapređenje u svinjarstvu u poslednjih 40 godina (*Foxcroft i sar., 2010*). Savremena proizvodnja svinja, skoro da se ne može zamisliti bez primene veštačkog osemenjavanja. Ova biotehnologija, tokom poslednjih nekoliko decenija, nesumnjivo, ima najveći uticaj na razvoj intenzivne proizvodnje svinja u svetu (*Broekhuijse i sar., 2012*).

Najbolji rezultati u proizvodnji svinja postižu se po sistemu uzgojno-priplodnih i reprodukciono-matičnih centara, utemeljenih na sistematskom oplemenjivačkom radu genetičara i selekcionara tokom više godina. Ovakav način proizvodnje svinja za priplod zastupljen je u zemljama sa vrlo razvijenim svinjarstvom (Danska, Poljska, Holandija, Švedska, Engleska i druge) (*Jovičin i sar., 2008*). Naročito pažljivo treba odabrati kvalitetne nerastove ali i pravilno ih držati i koristiti jer nerastovi u mnogome utiču na svojstva populacije svinja zato što jedan nerast daje puno veći broj potomaka nego jedna krmača. Osnovni uslovi za primenu veštačkog osemenjavanja u svinjarstvu su izbor nerasta (ili sperme) ili kupovina, trening nerasta za uzimanje sperme, evaluacija sperme, priprema i skladištenje, detekcija estrusa i inseminacija (*Khalifa i sar., 2014*). Osnov genetskog unapređenja u svinjarstvu je definisanje jasnog odgajivačkog programa. Odgajivački programi u svinjarstvu, u proteklih nekoliko decenija doveli su do značajnog napretka u mnogim ekonomski važnim osobinama svinja. Pomenuti programi bazirani su na identifikaciji genetski superiornih jedinki na osnovu procene njihove odgajivačke (priplodne) vrednosti. Rentabilnost svinjarske proizvodnje u najvećoj meri zavisi od reproduktivnih osobina. Osobine plodnosti su nisko nasledne i njihova varijabilnost je pre svega uslovljena različitim paragenetskim uticajima. Zbog toga je unapređenje ovih osobina najsloženije i zahteva kontinuirani odgajivačkoselekcijski rad. Osim ciljeva, odgajivački program bi trebalo da sadrži metode bazirane na odgovarajućim šemama ukrštanja, metode

odgajivanja i selekcije, metode procene odgajivačke vrednosti uz održavanje adekvatne rasne i paritetne strukture zapata (populacije). U neselekcionisanim populacijama životinja nije moguće ostvariti napredak, jer se u takvim populacijama ne sprovodi ciljana selekcija ili se vrši praćenje nekih osobina bez jasnog poznavanja metoda koje bi trebalo primeniti radi njihovog poboljšanja. Zato je neophodno permanentno praćenje najvažnijih proizvodnih i reproduktivnih osobina. Kontrola produktivnosti podrazumeva praćenje i odabir najboljih roditelja naredne generacije, uz blagovremeno eliminisanje životinja koje su ispod proseka populacije. Izbor metoda za procenu odgajivačke vrednosti zavisi od raspoloživih informacija o grlima, strukture podataka, distribucije osobina, veličine populacije kao i mnogih drugih uticaja (*Savić, 2014*). U savremenoj svinjarskoj proizvodnji, tehnologija veštačkog osemenjavanja je u potpunosti potisnula prirodan pripust. Uspeh u primeni tehnologije veštačkog osemenjavanja zavisi od identifikacije i selekcije nerasta čije su reproduktivne performanse, procenjene na osnovu libida, uspešnosti osemenjavanja i kvaliteta sperme, iznad proseka (*Okere i sar., 2005*). Upravo je iz tih razloga neophodno poznavanje i kontrola kvantitativnih i kvalitativnih osobina ejakulata nerasta. Analizom ejakulata moguće je dobiti standardizirane doze za osemenjavanje, kako u pogledu zapremine tako i u pogledu broja funkcionalnih spermatozoida u dozi. Kontrola kvalitativnih i kvantitativnih osobina sperme nerasta ima veliki ekonomski značaj za odgajivače svinja (*Smital., 2010*). Ovakav pristup omogućava gajenje manjeg broja visokovrednih priplodnjaka uz njihovo optimalno korišćenje u reprodukciji. S obzirom na primat veštačkog osemenjavanja, posebnu pažnju neophodno je usmeriti na odabir muških individua, uzevši u obzir činjenicu da je broj potomaka po nerastu mnogo veći u odnosu na broj potomaka po krmači.

Sve veća globalna potreba za povećanjem proizvodnje svinjskog mesa, zahteva sve brži napredak u genetskom poboljšanju produktivnih i reproduktivnih svojstava sadašnjih i novih rasa i linija svinja. Primarni uslovi za postizanje ovog cilja su: (a) maksimalna reproduktivna eksploatacija genetski superiornih nerastova, u savremenoj tehnologiji veštačkog osemenjavanja i (b) visok stepen fertiliteta veštački osemenjenih krmača (*Koketsu, 2007; Yung i sar., 2010; Stančić i sar., 2013*). Efikasan izbor visoko fertilnih genetski superiornih nerastova i visok fertilitet veštački osemenjenih krmača, ima veliki ekonomski uticaj na efikasnost praktične primene ove biotehnologije.

2. CILJ I RADNE HIPOTEZE

Ciljevi istraživanja:

1. Prikazati reproduktivne performanse nerastova i fertilitet veštački osemenjenih krmača, u proizvodnim uslovima na nekoliko vojvođanskih farmi sa intenzivnom proizvodnjom svinja.

2. Ustanoviti da li postoji značajno variranje reproduktivnih performansi kod nerastova - kvalitet ejakulata (volumen, progresivna pokretljivost, koncentracija spermatozoida, ukupan broj spermatozoida u ejakulatu i sadržaj proteina u spermalnoj plazmi nerastova), na pojedinim farmama.

3. Ustanoviti da li postoji značajno variranje reproduktivnih performansi kod nerastova - kvalitet ejakulata na (volumen, progresivnu pokretljivost, koncentraciju spermatozoida, ukupan broj spermatozoida u ejakulatu i sadržaja proteina u spermalnoj plazmi), po rasama.

4. Ustanoviti da li postoji značajno variranje reproduktivnih performansi kod nerastova na (volumen, progresivnu pokretljivost, koncentraciju spermatozoida, ukupan broj spermatozoida u ejakulatu i sadržaja proteina u spermalnoj plazmi), po uzrastu.

5. Ustanoviti da li različit sadržaj proteina u spermalnoj plazmi utiče na variranje volumena ejakulata, progresivnu pokretljivost, koncentraciju spermatozoida i ukupan broj spermatozoida.

6. Utvrditi povezanost - korelaciju između procenta ukupnih proteina u spermalnoj plazmi i parametara ejakulata (volumen, progresivnu pokretljivost, koncentraciju spermatozoida, ukupan broj spermatozoida.), i da li postoji uticaj sadržaja ukupnih proteina u spermalnoj plazmi na broj povađanja, ukupan broj oprasenih i ukupan broj prasadi po leglu.

7. Ustanoviti da li procentualna zastupljenosti proteina različite molekulske mase utiče na parametre: progresivne pokretljivosti sptz. kod nerastova, broj oprasenih majki, procenat povađanja i ukupan broj prasadi po leglu.

8. Ustanoviti da li postoji povezanost – korelacija između procentualne zastupljenosti proteina različite molekulske mase na progresivnu pokretljivost sptz. kod nerastova, na broj povađanja i ukupan broj prasadi po leglu.

Ciljevi istraživanja su postavljeni na osnovu sledećih radnih hipoteza:

1. U industrijskim uslovima proizvodnje, parametri fertiliteta krmača osemenjenih konvencionalnom intracervikalnom metodom, sve češće su niži od onih kod prirodno osemenjenih krmača. Kao jedan od primarnih razloga, navodi se preterano razređenje nativnih ejakulata, zbog potrebe formiranje maksimalno mogućeg broja inseminacionih (VO) doza po ejakulatu. Na ovaj način se višestruko redukuje koncentracija bioaktivnih supstanci u spermalnoj plazmi, što značajno smanjuje fertilizacioni kapacitet VO doze što rezultira smanjenjem vrednosti prašenja i manji broj prasadi u leglu.

2. Intenzivno povećanje količine i kvaliteta svinjskog mesa, zahteva maksimalnu efikasnost reproduktivnog iskorištavanja genetskog potencijala superiornih nerastova. Sadašnja produkcija inseminacionih doza po ejakulatu, odnosno po nerastu godišnje, zootehnoški nije dovoljna, a ekonomski nije isplativa.

3. Sadržaj spermalne plazme u ejakulatu, sve se češće navodi kao važan faktor povećanja potencijalnog fertilizacionog kapaciteta spermatozoida.

4. Smatra se da ejakulati sa većim sadržajem proteina imaju veću sposobnost visokog fertilizacionog potencijala spermatozoida.

5. Proteini, kao i druge aktivne supstance spermalne plazme (oksitocin, prostaglandini, citokini) imaju značajnu ulogu u preživljavanju i funkciju spermatozoida u ženskom polnom traktu.

6. Dobijeni rezultati ovog istraživanja, imali bi naučni i praktičan doprinos u rešavanju veoma važnog pitanja koje se odnosi na nedovoljno efikasne eksploatacije genetskog potencijala superiornih nerastova.

3. PREGLED LITERATURE

3.1 ANATOMIJA I FIZIOLOGIJA REPRODUKTIVNIH ORGANA NERASTA

Muški reproduktivni organi nerasta sastoje se od dva testisa sa po dva epididimisa koji su postavljeni izvan abdomena u skrotumu, akcesorne polne žlezde (prostata, vezikularne i bulbouretralne žlezde), *ductus deferens* i penis. Kako bi testisi normalno funkcionisali, moraju se održavati na nižim temperaturama od ostatka tela, pri čemu je razlika između skrotalne i rektalne temperature oko 3,2° C (*Kyriazakis i Whitemore, 2006*). Muški reproduktivni organi, imaju zdrženu funkciju stvaranja spermatozoida, obezbeđenja optimalnih uslova za njihovu maturaciju i vitalnost a sve u cilju dobijanja fertilnog ejakulata. Pomoću ovih organa ejakulat se prenosi kroz ženski reproduktivni traktu činom kopulacije ili metodom veštačkog osemenjivanja, kako bi došlo do oplodnje jajne ćelije (*Samuelson, 2007*).

3.1.1. Semenici (*testisi*)

Semenici (lat. *testes*), su parne polne žlezde nerasta, koji se nalaze u mošnicama (skrotumu), odnosno produžetku stomaka. Kod nerasta, testisi su locirani izvan tela, pošto je spermatogeneza efikasnija na temperaturama nižim od temperature tela (od 37°C). Kremasterni mišić (lat. *musculus cremaster*) obavija testise. Kada se ovaj mišić skupi, testisi se približe bliže telu, čime se obezbjeđuje zagrevanje, odnosno održavanje temperature testisa. Kada temperatura treba da se spusti, ovaj mišić se opušta i spušta testise od tela i omogućuje hlađenje testisa (*Samuelson, 2007; Mickovski, 2000*).

Osnovna funkcija testisa je spermatogeneza ili stvaranje spermatozoida. Testisi se sastoje od dve vrste tkiva: intersticijalnih Lajdigovih ćelija (odgovorne za sintezu i sekreciju testosterona) i seminifernih tubula (odgovorni za sazrevanje spermatozoida). Razvoj zrelih spermatozoida iz spermatogonija traje oko 34 dana (*Kyriazakis i Whitemore, 2006*). *Ford i sar., 2006* tvrde da primarni faktor u dnevnoj produkciji sperme predstavlja broj Sertolijevih ćelija, što je povezano sa masom testisa.

3.1.2. Pasemenik (*epididimis*)

Epididimis ili pasemenik je paran organ muškog polnog sistema. Morfološki, pasemenik se deli na: glavu pasemenika, telo pasemenika i rep pasemenika (*Mickovski, 2000*). Sastoji se od kanalića koji su složeni u zavoje i čine reznjiće, a nastavljaju se na odvodne kanale semenika. Kanali pasemenika se spajaju u jednu cev, *ductus epididymidis* koja prelazi u semenovod. Cev pasemenika je duga (3-4 m) ali i isprepletana, tako da čini telo i rep pasemenika (*Samuelson, 2007*).

3.1.3. Semenovod (*ductus deferens*)

Pasemenici se prazne u dva semenovoda koji vode spermiju od levog i desnog pasemenika do mokraćne cevi. Svaki semenovod je dug od 15 - 30 cm i građen je od glatkomišićnog tkiva (*Samuelson, 2007; Mickovski, 2000*).

3.1.4. Mokraćovod (*uretra*)

Muška uretra je kanal koji sprovodi spermiju kroz penis, u procesu ejakulacije. Muška uretra se završava na glansu penisa, svojim otvorom. Kada uđe u sastav penisa, uretra je obavijena šupljikavim (kavernoznim) ili sunderastim (spongioznim) telom (*corpus cavernosum seu spongiosum urethrae*) (*Stančić, 2014*). U zidu uretre se nalaze mišićna vlakna, čijom kontrakcijom se potiskuje sperma, kroz penis, u spoljašnju sredinu (*Samuelson, 2007*).

3.1.5. Kopulacioni organ (*penis*)

Kopulacioni organ kod nerasta je neparan organ, na kome se razlikuju koren (*radix penis*), telo (*corpus penis*) i glavić (*glans penis*). Telo penisa je izduženo, ovalnog oblika, sa dosta fibroelastičnih vlakana. Na poprečnom preseku tela se vide dva sunderasta (šupljikava) tela (*corpora spongiosa seu cavernosa penis*), odvojena vezivnom pregradom (*Stančić, 2014*). Sunderasta tela su slabo razvijena kod nerasta, kod kojih postoji više fibroelastičnih vlakana (penis fibroelastičnog tipa) (*Samuelson, 2007*).

3.1.6. Mošnica (*scrotum*)

Mošnica je kesasto proširenje kože, smešteno, kod nerasta, ispod analnog otvora, Šupljina skrotuma je, vezivnom pregradom (*septum scroti*) podeljena na dva dela, gde se u svakoj šipljini nalazi po jedan testis. Uloga skrotuma je da štiti testese od fizičkih i drugih spoljašnjih uticaja i obezbeđuje optimalna temeperatura testisa (*Samuelson, 2007*).

3.1.7. Puzdra (*praeputium*)

Puzdra je duplikatura kože donjeg (ventralnog) trbušnog zida, u kome je smešten penis. U sluzokoži prepucijuma se nalaze žlezde, koje izlučuju specifičan sekret (*smegma*). Neposredno iza ulaza u prepucijum, na gornjem zidu, kod nerasta nalazi se jedna šupljina (*bursa praeputialis*), u kojoj se nakuplja smegma, nečistoća, bakterije itd. Tokom ejakulacije ove nečistoće zagađuju spermu zbog čega treba voditi računa o higijeni nerastova, a ovu šupljinu, s vremena na vreme, očistiti i dezinfikovati. Prilikom erekcije, glans i deo tela penisa izlaze iz puzdre (Stančić, 2014).

3.1.8. Semeno uže (*funiculus spermaticus*)

Semeno uže je paran organ, na kome visi svaki testis, privezan za ingvinalni kanal. U sastav semenog užeta ulaze: serozne ovojnice testisa, semevod, arterijski i venski sudovi, nervi i jedan mišić (*m. cremaster*). Ovaj mišić primiče testis bliže trbušnoj šupljini (kada se kontrahuje), ili ga odmiče od trbušne šupljine, kada se relaksira. Ovo je jedan od načina termoregulacije testisa. Hlađenje testisa se vrši i tako što hladnija krv, koja izlazi venom iz testisa, a koja je omotana oko arterije, hladi krv, koja se tom arterijom uvodi u testis. Ovaj venski splet oko arterija naziva se *plexus pampiniformes* (Stančić, 2014; Samuelson, 2007).

3.1.9. Pomoćne polne žlezde (*glandulae accessories genitales*)

Pomoćne polne žlezde su smeštene u karličnoj šupljini, duž muške uretre, u koju izlivaju svoje sekrete. Postoje tri vrste pomoćnih polnih žlezda: (1) vezikularne (*glandulae vesiculares*) parne, (2) prostata (*glandula prostatica*), neparna i (3) bulbouretralne ili Kuper-ove (*glandulae bulbourethrales, seu glandulae Cupherii*), koje su parne (Samuelson, 2007).

Vezikularne žlezde. Svaki od dva reznja vezikularnih žlezda, smeštenih na gornjoj (dorzalnoj) površini vrata mokraćne bešike, jednim izvodnim kanalom izliva svoj sekret u uretru, preko zajedničkog otvora sa otvorom semevoda. Tako se spermatozoidi mešaju sa semenom tečnošću, pre nego što dospeju u uretru. Sekret ovih žlezda čini oko 80% ukupne zapremine sekreta svih akcesornih žlezda. Vezikularne žlezde su jako razvijene kod nerasta, te daju veliku količinu semene tečnosti, zbog čega je ejakulat nerasta velikog volumena.

Prostata je okruglasta žlezda, smeštena na početnom delu uretre. Građena je iz dva dela: telo prostate (*corpust prostatae*), koji je bliži mokraćnoj bešici i diseminiran deo (*pars disseminata*), postavljen kaudalno, duž uretre. Svoj sekret izliva u uretru preko nekoliko kanala (Flowers, 1998).

Bulbouretralne žlezde imaju dva režnja, smeštena sa obe strane bulbusa (proširenja) uretre, neposredno pre nego što uretra napusti karličnu šupljinu i uđe u sastav penisa. Sekret ovih žlezda je želatinozan (tzv. želatinozni ili gel čepići u spermi nerasta). Sekret akcesornih polnih žlezda čini preko 80% volumena ejakulata nerasta (Stančić, 2014; Samuelson, 2007).

3.2. ENDOKRINI SISTEM

Endokrini sistem predstavlja zbir heterogenih subjedinica-žlezda, odnosno ćelija koje kao celina imaju značanju ulogu u organizmu životinja da uspostavljaju, održavaju i koordinišu funkcijom pojedinih tkiva, odnosno organa. Za izvršavanje tih funkcija endokrini sistem proizvodi biološki aktivne materije-hormone koji prvenstveno krvotokom, ali i nervnim putem dolaze do mesta gde manifestuju svoje delovanje. Za razliku od drugih sistema u organizmu endokrini sistem nije organizovan u anatomskoj celini, njegovi sastavni delovi (žlezde, ćelije) rasprostranjeni su u celom organizmu (Popovski, 2000).

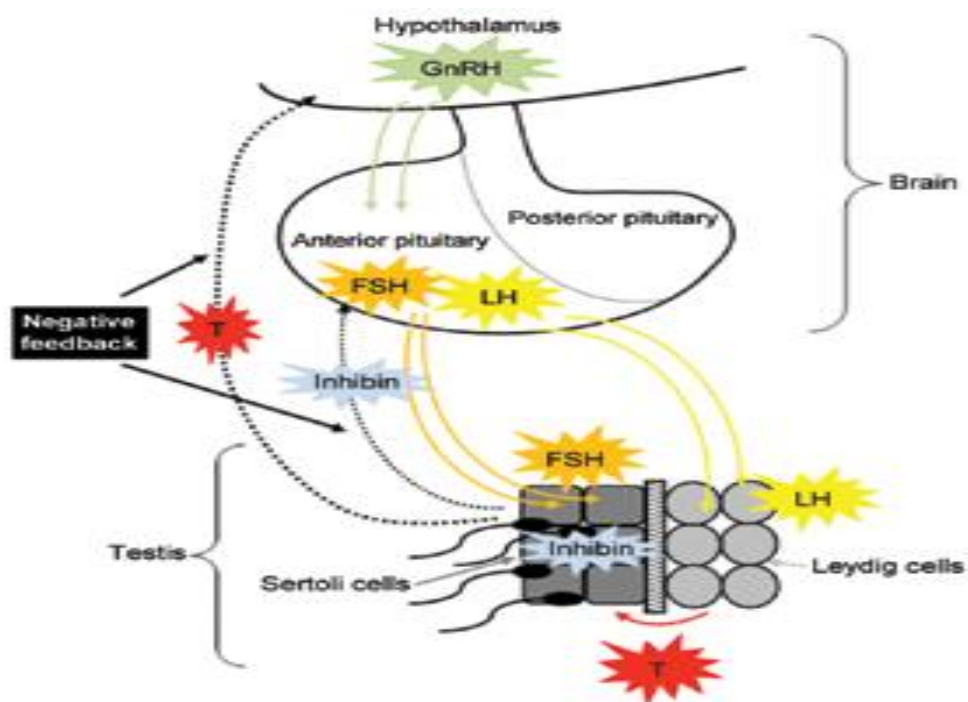
Regulacija funkcije muškog reproduktivnog sistema ostvaruje se preko neuroendokrinog sistema uz koordinativnu funkciju pomoću hipotalamusa i hipofize. Koordinacija se ostvaruje putem osnovnih principa negativne povratne sprege koja omogućuje održavanje homeostaze reproduktivnog sistema. Abnormalna aktivnost u jednom ili više nivoa reproduktivnog ili neuroendokrinog sistema mogu dovesti do reproduktivnih problema kod nerasta. (Popovski, 2000).

3.2.1. Gonadotropna osovina

Centralni nervni sistem (CNS) učestvuje u funkcionisanju muškog reproduktivnog sistema tako što skuplja signale unutar tela i spoljne signale iz okruženja, integriše ih i reguliše fiziološke funkcije povezane sa reprodukcijom. Hipotalamus je deo mozga, a on luči gonadotropni oslobađajući hormon (GnRH) koji kontroliše proizvodnju i sekreciju luteinizirajućeg hormona (LH), koji se kod mužjaka naziva i *Interstitial – Cell Stimulating*

Hormone (ICSH), i hormon za stimulaciju folikula (FSH) iz hipofize (*Hafez, 2013*). Ova dva hormona su odgovorna za regulaciju funkcije testisa (*Flowers, 1998*).

Regulacija endokrine aktivnosti reproduktivnog sistema nerasta ostvaruje se mehanizmom negativne povratne sprege koji uključuje GnRH iz hipotalamusa, LH (ICSH) i FSH prednjeg režnja hipofize i testosterona iz testisa. Hipotalamusni GnRH stimuliše sekreciju LH i FSH iz hipofize, koji stimulišu oslobađanje testosterona iz testisa. Zapravo, FSH stimuliše proces spermatogeneze, dok LH produkciju steroidnih hormona (testosterona) i sekreciju iz intersticijalnih Lajdigovih ćelija. Prisustvo testosterona u cirkulaciji moduliše sekreciju hipotalamusnih hormona, što predstavlja negativni povratan efekat (slika. 1), a dalja neurohumoralna kontrola ide preko oslobađanja LH iz prednjeg režnja hipofize (*Kyriazakis i Whittemore, 2006*).



Slika 1. Uloga hormona; Hipotalamus proizvodi hormone GnRH (gonadotropina releasing hormon), hipofiza proizvodi LH (hormon luteinizin) i FSH (folikula stimulirajući hormon), koji zajedno stimulišu oslobađanje testosterona iz testisa (*PIC Sires, 2013*).

3.2.2. Pubertet

Pubertetet je deo života individue, u kome se vidno primećuju intenzivne promene polnog i fizičkog razvoja individue (*Popovski, 2000*). Kod većine rasa nerastova spermatogeneza počinje u dobi od 120 do 180 dana. Prva ejakulacija kod nerasta se dešava od 5 do 8 meseci starosti, pri čemu se broj spermatozoida i volumen ejakulata kontinuirano povećavaju tokom prvih 18 meseci života (*Kyriazakis i Whittemore, 2006*).

Proces ejakulacije kod nerasta je višefazan, tako da od samog pristupa pri uzimanju ejakulata zavise njegova kvantitativna i kvalitativna svojstva. Prva faza ejakulata je prespermalna, bez spermatozoida, a predstavlja sekret prostate koji ne bi trebalo prihvatiti u spermosabirač. Druga, najvažnija je spermalna faza ejakulacije i najveći broj spermatozoida se nalazi u spermalnoj tečnosti (prema različitim navodima 70-80%). Treća je postspermalna faza i sadrži sekrete akcesornih polnih žlezda (najveći volumen). U tabeli broj 1, prikazani su osnovni parametri kvaliteta ejakulata prema pojedinim autorima, kod jedinki koje su postigle reproduktivnu i telesnu zrelost.

Tabela 1. Osnovni parametri kvaliteta ejakulata (*preuzeto iz Apić, 2015*)

Parametri ejakulata				
Autori	Volumen (ml)	Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6/\text{ml}$)	Ukupan br. Spermatozoida ($\times 10^9$)	Progresivna pokretljivost (%)
<i>Katanić (2004)</i>	256	204	52	77
<i>Smital (2009)</i>	280	352	98	75
<i>Stančić i sar. (2011)</i>	278	200	56	84
<i>Stančić i sar. (2012)</i>	253	254	64	78
<i>Stančić i sar. (2013)</i>	265	235	62	77
<i>Wolf i Smital (2014)b</i>	260	396	103	76

3.3. ODGOJ NERASTA- SMEŠTAJ, ISHRANA I EKSPLOATACIJA

Sistem uzgojno-priplodnih i reprodukciono-matičnih centara u proizvodnji priplodnih nerastova daje najbolje rezultate. To se može postići adekvatnom zdravstvenom zaštitom, savremenom tehnologijom i dobrom organizacijom proizvodnje uz primenu odgovarajućih postupaka u tehnologiji veštačkog osemenjavanja (*Bojkovski i Vakanjac, 2014*). Smeštaj i ishrana imaju vrlo značajnu ulogu u maksimalnom iskorišćavanju produktivnih svojstava plemenitih rasnih svinja, posebno za duži životni i proizvodni vek.

3.3.1. Ishrana i smeštaj priplodnih nerastova

Poslednjih godina proizvodni parametri su primarni i glavni kriterijumi pri odabiru i optimizacija sistema smeštaja i ishrane priplodnih nerastova. Odabir i optimizacija postojećih sistema mora se zasnivati takođe i na zadovoljenje osnovne fiziološke potrebe, a time i obezbeđenje blagostanja i dobrobiti životinja (*Nocella, G. i sar., 2010*). Dizajn sistema smeštaja i sistema ishrane, danas moraju biti u funkciji specifičnih potreba svih proizvodnih faza kako bi se obezbedilo maksimalno iskorišćavanje svih bioloških i proizvodnih kapaciteta životinje. Reproductivne performanse nerasta ocenjuju se na osnovu parametara ejakulata koji su pre svega determinisane unutrašnjim (genetskim) faktorima ali ekspresija genetskog potencijala u velikoj meri zavisi od spoljašnjih (paragenetskih) faktora. Istraživanja su pokazali da reproductivne performanse nerasta zavise i od odabira sistema odgajanja, uslova smeštaja, kohabitacije sa drugim jedinkama kao i načina ishrane (*King'ori A., 2012*). Sistem smeštaja nerasta koji se koriste za priplod danas je regulisan i direktivama EU koje se odnose na zdravlje i dobrobit priplodnih krmača/nazimica i nerasta za priplod. Naime, Direktive zasnovane na naučnom mišljenju EFSA (European Food Safety Authority) bave se optimizacijom standarda kojih se moraju ispuniti u pogledu smeštaja nerasta. Ovim standardima, sa jedne strane moraju da se očuvaju i unapredi zdravstveno stanje i dobrobit životinja, a sa druge strane, da se postignu maksimalne reproductivne performanse (*European Food Safety Authority (EFSA) 2007*).

Danas se uglavno primenjuje individualni pristup odgajanja nerastova za priplod ali se koncept smeštaja zasniva na to da li je pristup farme dobijanje semeskog materijala ili prirodni način osemenjivanje plotkinja. Individualni smeštaj kod nerastova započinje u periodu kad jedinka dostiže polnu zrelost ili oko 6 meseci starosti. Smeštaj u individualnom boksu mora obezbediti optimalnu mikroklimu boksa, a time i udobnost kretanja i ishrane jedinke. Mikroklima u individualnom boksu podrazumeva ambijentalnu temperaturu, svetlost, ventilaciju i vlažnost vazduha. Utvrđeno je da povećanje temperature i vlažnosti vazduha kao i smanjenje ili povećanje fotoperioda dovode do povećanja abnormalnih spermatozoida u ejakulatu (*Jovičin i sar., 2008; Suryasomboon, 2005; Sancho i sar., 2006*). U nekim sistemima primenjuje se i kohabitacija nerastova sa jedinkama suprotnog pola obzirom na tome da su istraživanja pokazala da bliskost i kohabitacija nerasta sa nazimicama ili krmačama omogućava uvođenje u esutrus a time i skraćivanje servis perioda kod ženskih jedinki. (*Knox i sar., 2004*). Kod sistema gde je uključeni koncept veštačkog osemenjivanja važno je primeniti i osnovne principe smanjenja

stresa jedinke tokom manipulacije sa nerestom prilikom uzimanja ejakulata (Rodriguez i sar. 2017).

Savremeni koncept držanja nerastova takođe uključuje i optimizaciju sistema ishrane. Energetske potrebe kreću se u pravcu rasta i razvoja nerasta, održavanje telesne kondicije, energije potrebne tokom čina parenja i intenziteta spermatogeneze (Wilson i sar. 2004). Istraživanja nutritivnog efekta na spermatogenezu primarno se odnosi na zadovoljenje potrebe osnovnih komponenti hrane uz dodatak vitamina, mikro i makroelementa u ishrani nerastova (Close W. H. i Roberts F. G. 1993; Wilson i sar. 2004). Istraživanja su pokazala da nutritivni deficit kod nerastova u razvoju dovodi do slabijeg razvoja testikularnog tkiva što vodi ka smanjenju spermatogeneze i maturacije razvojnih oblika spermatozoida (Brown, B. W., 1994). Efekat nutritivnog deficita kod nerastova koji se koriste za proizvodnju semena mogao bi biti uočljiv samo u situaciji jakog restriktivnog deficita (25% do 50%) koji traje u periodu od 6 do 8 nedelja. U ovom slučaju Flowers (2015) navodi da bi došlo do značajnog smanjenja volumena i kvaliteta ejakulata. Louis i sar. (1994) navode da prvi znak nutritivnog deficita kod neresta bio pad libida pre nego što bi se mogle uočiti ikakve merljive promene u produkciji sperme. Flowers (2015) u svom preglednom radu ukazuje na nasaglasnost rezultata oko efekta dodavanja vitamina i minerala u ishrani nerasta na kvalitet ejakulata čime naglašava da neki autori nisu utvrdili efekat suplementacije dok su drugi pokazali da suplementacija značajno utiče na kvalitet sperme. Ali ipak rezultati pokazuju da suplementacija vitamina u ishrani pozitivno utiče na motilitet spermatozoida (Audet i sar., 2009), čak i da suplementacija vitamina i minerala može imati i protektivan efekat na spermatozoide. Naime istraživanja kod nerastova suplementacijom vitamina E i selena, pokazala su značajne efekte na kvalitet ejakulata. Noviji rezultati pokazali da selen ima glavnu ulogu u zaštiti spermatozoida od oksidativnih radikala u ejakulatu (Marin-Guzman 1997 i sar.; Surai PF i Fisinin 2015). Prema tome moglo bi se reći da nutritivna korekcija ishrane suplementima veoma važna kod nerastova u situacijama povećane eksploatacije ili u slučajevima kada su uslovi odgajanja suboptimalni (Flowers 2015).

3.3.2. Zdravstvene kontrole priplodnih nerastova

Na osnovu Pravilnika o utvrđivanju programa mera zdravstvene zaštite životinja za 2018 godinu, objavljenom u Službenom glasniku broj 11 (09.02.2018.) dijagnostičkom ispitivanju priplodnih nerastova u centrima za VO svinja poležu sve priplodne životinje dva puta godišnje, a

nerastovi koji se koriste za prirodan pripust za potrebe sopstvenog stočarstva jedanput godišnje, na sledeće bolesti:

- brucelozu (*B. suis*, *B. abortus*)
- tuberkulozu (bovinim tuberkulinom)
- Aujeskijeva bolest
- Leptospiroza
- PRRS.

Istim pravilnikom propisane su i imunoprofilaktične mere za sledeće bolesti:

- Klasična kuga svinja – (re)vakcinacija nerastova dva puta godišnje

Takođe, na farmama priplodnih i tovnih svinja vrši se aktivan nadzor (monitoring) bakterija iz roda *Salmonella* i meticilin rezistentni *Staphylococcus aureus* (MRSA), virus Aujeskijeve bolesti, kao i virusa afričke kuge svinja. Tokom eksploatacije, prilikom svakog skoka moraju se kontrolisati i kontinuirano pratiti parametri kvaliteta nativne sperme odnosno razređenog semena. Ukoliko se redovnim kontrolama kvaliteta uoče lošiji reproduktivni pokazatelji, potrebno je izvršiti obsežnije laboratorijske analize nativne sperme, razređenog semena i prepucijalnog brisa (bakteriološki pregled sa izradom antibiograma i citološko-morfološka ispitivanja).

3.4. PRODUKCIJA SPERME

Proizvodnja sperme zavisi od brojnih paragenetskih faktora kao što su godišnja sezona, posebno ambijentalna temperatura i trajanje dnevnog fotoperioda (*Šernien i sar., 2002; Stančić i sar., 2003; Lipenský i sar., 2010; Lapuste i sar., 2011*), ishrana (*Wilson i sar., 2004*), starost nerasta (*Oliveira i sar., 2014; Szostak i Przykaza, 2011*), uslovi smeštaja i zdravstveno stanje nerasta (*Glossop, 1998; Glossop, 2000*) i genetskih faktora, koji podrazumevaju rasu, liniju i samu individuu (*Jankevičiūtė i Žilinskas, 2002; Katanić, 2004; Stančić i sar., 2003; Smital, 2009*).

Spermatozoidi se prvi put javljaju u semenim kanalićima testisa, kod prepubertetskih nerastića u uzrastu od oko 4 meseca (*Apić, 2015*). Pubertet (polno sazrevanje) započinje sa oko 5 ½ meseci starosti, kada već ima spermatozoida u ejakulatu. U sledećih 6-8 meseci masa testisa se intenzivno povećava, a isto tako povećava se i koncentracija spermatozoida i volumen ejakulata. Smatra se da je nerast potpuno polno zreo sa punih 18 meseci starosti, jer se posle ovog perioda, ne uočavaju značajne promene u parametrima ejakulata (volumen, koncentracija, ukupan broj spermatozoida, progresivna pokretljivost, broj mrtvih i patološki promenjenih spermatozoida).

Količina ejakulata nerasta ima volumen u proseku oko 300 ml, a broj spermatozoida iznosi od 80 do 120 biliona, ukoliko se sperma uzima jednom nedeljno, što znači da je dnevna produkcija sperme od 10 do 20 milijardi spermatozoida na dan (*Rothschild i Ruvinsky, 2011*) što omogućava da se, nedeljno po nerastu, dobije 20 do 40 doza za veštačko osemenjavanje (VO doza) (*Knox, 2003*). U proseku od jednog nerasta, dobija se oko 1.144 inseminacionih doza godišnje (22 doza po ejakulatu \times 52 nedelje, tj. uzimanje sperme jednom nedeljno), što je dovoljno za uspešno osemenjavanje oko 230 krmača godišnje (u dobrim zapaatima je potrebno prosečno 5 VO doza po krmači godišnje) (*Singleton, 2001; Khalifa i sar., 2014; Apić, 2015*). U tabela broj 2 prikazane su vrednosti parametara dobrog ejakulata prema *Frunžā i sar., 2008*.

Tabela 2. Osnovni parametri kvaliteta ejakulata nerasta (*preuzeto iz Apić, 2015*)

Parametri	Vrednosti
Volumen ejakulata (ml)	250 (100 -1200)
Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml)	262 (100 - 600)
Ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$)	56 (10 - 120)
Progresivna pokretljivost spermatozoida (%)	70 (65 - 95) ¹
Morfološki abnormalni spermatozoidi (%)	10 do 60
Mrtvi spermatozoidi (%)	10 do 70
Spermatozoidi sa proksimalnom citoplazmatskom kapi (%)	20 do 40
Spermatozoidi sa distalnom citoplazmatskom kapi (%)	30 do 70

*Prema *Frunžā i sar., 2008*.

3.5. FAKTORI KOJI UTIČU NA PARAMETRE EJAKULATA

Na parametre ejakulata nerasta utiče veći broj genetskih i paragenetskih faktora. Ipak treba da se zna da su osobine ejakulata nerasta nisko nasledne, tako da je varijabilnost ovih osobina u velikoj meri uslovljena različitim paragenetskim faktorima. Neki uticaji, kao što su neadekvatna ishrana, visoka ambijentalna temperatura i starenje životinje imaju negativan efekat na produkciju sperme (*Šerniené i sar., 2002*). Istraživanja koja su radili i rezultati koji su dobili ovi autori pokazali su značajan uticaj starosti, sezone, interakcije starost-rasa i sezona-rasa na morfološke karakteristike i vitalnost sperme. Dakle, kako navode *Smital i sar. (2004)*, istraživanja brojnih autora jasno pokazuju da razlike u fertilitetu nerastova više zavise od genetskih nego od paragenetskih (spoljašnjih) faktora. Otkrivanje tih razlika između pojedinih nerastova je od velike važnosti za proizvodnju svinja, jer nerastovi imaju veliki uticaj na reproduktivnu performansu zapata, naročito ako se radi o primeni veštačkog osemenjavanja (*Juonala i sar., 1998*).

Iako na parametre ejakulata nerasta utiče veći broj genetskih i paragenetskih faktora, ipak se, u ovom pogledu, ističu frekvencija uzimanja sperme, rasa, starost nerasta i godišnja sezona (*Colenbrander i Kemp, 1990; Stančić i sar., 2003*).

3.5.1. Frekvencija uzimanja sperme.

Intenzitet korišćenja, odnosno frekvencija uzimanja sperme utiče na njene kvantitativne i kvalitativne parametre (*Wolf i Smital, 2009a; Wolf i Smital, 2009b*). Prema većem broju istraživača, optimalna pauza između dva skoka za neraste u eksploataciji je 3-5 dana, a kada su u pitanju mladi nerasti pauza između dva skoka treba da bude veća (minimum 7 dana). Za nerastove mlađe od 12 meseci, preporučuje se uzimanje sperme jednom nedeljno, a za one starije od 12 meseci, 3 puta u dve nedelje. Kvalitet ejakulata dosta varira u zavisnosti od frekvencije uzimanja sperme. Optimalna frekvencija uzimanja sperme značajno varira individualno, između pojedinih nerastova (*PIC Sires, 2013*). Interval između dva uspešna uzimanja ejakulata ima veliki uticaj na koncentraciju sperme (*Wolf i Smital, 2009a*).

Produženjem ovog intervala sa 2 na 6, odnosno 10 dana, koncentracija sperme se povećava približno za 100×10^3 , odnosno 150×10^3 spermatozoida po mm^3 . Kada je u pitanju volumen ejakulata, uticaj interval između dva uzimanja sperme je znatno slabiji, a uočeno je blago povećanje kada je interval produžen sa 2 na 7 dana. Intervali duži od 12 dana imaju za posledicu smanjenje procenta pokretljivih spermatozoida i izvesno povećanje procenta abnormalnih spermatozoida u ejakulatu. Prihvatljiv nivo volumena ejakulata javio se posle seksualne pauze od 3 dana, a rezerve spermatozoida su se obnovile posle 5-7 dana, dok je za potpunu obnovu bilo neophodno 10-11 dana (*Smital, 2009*). Procent progresivno pokretnih spermatozoida opada, a morfološki abnormalnih raste, sa produžavanjem intervala između dva uzimanja sperme, ali su promene relativno male (*Wolf i Smital, 2009b*). Istraživanja koji su radili isti autori pokazuju da fenotipske vrednosti osobina ukupnog broja i broja funkcionalnih spermatozoida rastu kada se interval između dva uzimanja sperme produži na 10 dana, a kada su u pitanju duži intervali, vrednosti ovih osobina opadaju. Optimalan interval između dva uzimanja sperme treba da bude od 7 do 10 dana, pošto se takvim pristupom dobijaju ejakulati sa približno optimalnim vrednostima u pogledu svih osobina (*Wolf i Smital, 2009a*). *Rothschild i Ruvinsky (2011)* ukazuju da se broj spermatozoida u ejakulatu postepeno smanjuje kada se nerast koristi više od jednom nedeljno, uprkos neznatnom povećanju produkcije sperme sa frekvencijom ejakuliranja. Sve analize pokazuju da su sve merene osobine sperme (volumen ejakulata,

koncentracija, pokretljivost, procenat abnormalnih spermatozoida, ukupan broj i broj funkcionalnih spermatozoida) više osetljive na promene kada je interval između dva uspešna skoka kraći (*Wolf i Smital, 2009b*).

U svinjarskoj proizvodnji dešava se da se neki nerastovi češće koriste za uzimanje ejakulata, pri čemu se ignoriše intenzitet korišćenja i prave male pauze između skokova. Time se dobijaju ejakulati slabije fertilnog kapaciteta. Zbog toga je neophodno voditi računa o frekvenciji uzimanja sperme nerasta, kako bi se dobila sperma optimalne fertilne sposobnosti.

3.5.2. Rasa nerasta

Rasa ima značajni uticaj na osnovne parametre sperme nerasta i signifikantno ($p < 0,001$) utiče na volumen ejakulata, koncentraciju spermatozoida u 1ml ejakulata, kao i na postotak morfološki promenjenih spermatozoida u ejakulatu (*Katanić, 2004*) (Tabela br.3). Nije utvrđena značajna razlika u procentu progresivne pokretljivosti spermatozoida između rasa Durok i Danski Landras, što su takođe utrdili i *Jankevičiūtė i Žilinskas (2002)* u svojim ispitivanjima.

U istraživanja koja su radili *Wolf i Smital (2009b)*, ustanovili su da nerastovi rase Durok (D) imali najmanji volumen ejakulata (200 mL), ali imali su najveću prosečnu koncentraciju spermatozoida (491×10^3 spermatozoida po mm^3) u odnosu na ostale čistorasne nerastove i meleze. Kod nerastova rase Veliki Jorkšir, prosečan volumen je bio 270 mL, a prosečna koncentracija je bila 461×10^3 spermatozoida po mm^3 . *Smital (2009)* je ustanovio signifikantne razlike u volumenu (V), koncentraciji spermatozoida (Ko), progresivnoj pokretljivosti (Pp), procentu abnormalnih spermatozoida (As) i ukupnom broju spermatozoida (Ub).

Maksimalne razlike između pojedinih parametara ejakulata između rasa su bile 95 mL za V, $109 \times 10^3 \text{ mm}^3$ za Ko, 9 % za Pp, 1,6 % za As i 24×10^9 za Ub. Maksimalni heterozis efekt je postignut 12% za V, 17% za Ko, 4% za Pp, 14% za As i 8% za Ub. *Ciereszko i sar.(2000)* ustanovili su da postoji signifikantna razlika ($p < 0,01$) između nerastova rase Veliki jorkšir i Pietren u volumenu ejakulata (266 mL prema 158 mL), koncentraciji spermatozoida (373×10^6 /mL prema 548×10^6 /mL prema 548×10^6 /mL) i ukupnog broja spermatozoida u ejakulatu (95×10^9 prema 85×10^9). *Kommisurd i sar. (2002)* pronašli su da prosečan volumen ejakulata nerastova rase Durok iznosi 147 mL, rase Landras 265 mL i rase Veliki jorkšir 245 mL.

U istraživanju koje su radili *Stančić i sar. (2003)* utvrdili su da je najveći volumen (303 mL) i najniža koncentracija spermatozoida (181×10^6 po mL) ustanovljena kod nerasta rase

Hempšir, najmanji volumen je utvrđen kod nerasta rase Pijetren (177 mL), a najveća koncentracija spermatozoida je bila kod nerasta rase Durok (218×10^6 po mL) kod koga je volumen ejakulata bio niži od proseka svih ispitivanih nerastova (191 mL prema 262 mL). Isti autori u tom istraživanju utvrdili su da je prosečna pokretljivost spermatozoida bila 78%, pri čemu najniža je bila kod nerasta rase Durok (75%), a najviša kod nerasta rase Pijetren (83%). Od 182 analizirana ejakulata, progresivna pokretljivost niža od 65% ustanovljena je kod 12,6% ispitanih ejakulata. Najveći broj takvih ejakulata sa progresivnom pokretljivošću nižom od 65% ustanovljeno je kod 22,7% nerastova meleza F1 i kod 17,6% nerasta Švedskog landrasa. Takvi su ejakulati, prema navodima autora, neprihvatljivi za pripremu doza za veštačko osemenjivanje.

Rezultati dobijeni iz mnogobrojnih istraživanja pokazuju da postoje značajne razlike u vrednostima osnovnih parametara fertilizacionog potencijala ejakulata, između pojedinih rasa nerastova. Ove razlike trebaju se iskoristiti u selekcijskim programima za povećanje fertiliteta sperme nerastova (*Smital i sar., 2004*).

Tabela 3. Parametri ejakulata nekih rasa nerastova (*Katanić, 2004*) (*preuzeto iz Apić, 2015*)

Parametri	Rasa nerastova				Prosek (n=287)
	D (n=39)	H (n=32)	VJ (n=54)	ŠL (n=44)	
Volumen (ml)	183	303	275	292	256
Ukupan broj spermatozoida ($\times 10^9$)	39	53	52	55	50
Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml)	244	181	193	191	204
Prog. pokretljivost (%)	73	81	78	75	77
Ukupno prog. pokretnih spermatozoida ($\times 10^9$)	28,5	42,9	40,6	41,3	38,7

D-durok; H-hempšir; VJ-veliki jorkšir; SL-švedski landras.

3.5.3. Starost nerasta

Starost nerasta ima značajan uticaj kako na kvantitativne, tako i na kvalitativne osobine sperme (*Sutkevičienė i Žilinskas, 2004; Smital, 2009; Wolf i Smital, 2009a; Wolf i Smital, 2009b; Wierzbicki i sar. 2010*). Sperma nerasta kvantitativno i kvalitativno, konstantno se povećava sa razvojem testisa, produkcijom testosterona i povećanjem libida sve do polne zrelosti od 6 do 8

meseci starosti, a kasnije u manjem procentu do postizanja odrasle veličine tela (*Rothschild i Ruvinsky, 2011*).

Uticaj starosti na osnovne parametre ejakulata koji su indikator kvaliteta semena bili su predmet mnogih istraživanja (*López Rodríguez, 2012; Stančić, 2008, Savić, 2013*). Rezultati ovih istraživanja jasno pokazuju da uzrast značajno utiče na spermatogenezu i volumen ejakulata, a time i na koncentraciju i ukupan broj spermatozoida u ejakulatu i motilitet spermatozoida. *Samital i sur. (2009)*, a kasnije i *Savić i sar. (2013)*, navode da starost pozitivno utiče na parametre ejakulata objašnjavajući da se maksimalne vrednosti parametara ejakulata kod nerastova postižu sa uzrastom od 2,5 - 3,5 godine. Naime, od početka reproduktivnog iskorišćavanja, volumen ejakulata se postepeno povećava za oko 100 ml do druge godine starosti nakon čega ostaje manje ili više konstantan (*Wolf i Smital, 2009a*). Rezultati do koji su došli *Jankevičiūtė i Žilinskas (2002)* pokazali su da kod se rase Durok i Danski Landras, sa starošću nerasta povećava volumen ejakulata. Isti autori, u kasnijim istraživanjima (2004), potvrđuju da je starost nerasta u pozitivnoj korelaciji sa volumenom ejakulata ($r=0,588$). Sa druge strane, isti autori u svom istraživanju takođe pokazuju da se povećanjem volumena ejakulata smanjuje koncentracija spermatozoida (*Jankevičiūtė i Žilinskas; 2002*). *Eraser i sar. (2016)* utvrdili su veću koncentraciju spermatozoida kod nerastova mlađih od 18 meseci dok ranije *Wolf i Smital (2009)* navode da je povećanje koncentracije spermatozoida u 1ml ejakulata konstantno do 11 meseci starosti. Ranija istraživanja koja su sproveli *Kennedy i Wilkins (1984)* pokazali su da se maksimalne vrednosti koncentracije spermatozoida mogu dobiti iz ejakulata nerastova sa strošću od 24-29 meseci. Koncentracija spermatozoida a time i spermatogeneza vezana je, i prati trend razvoja testisa i fenotipskih testikularnih karakteristika što je uslovljeno uzrastom nerasta (*Stančić, 2003*). Razvoj i karakteristike testisa a time i nivo spermatogeneze zavisni su od nivoa testosterona (*Bilskis R, 2012*). Starenjem organizma dolazi do pada koncentracije testosterona, a time i kavalitativnih i kvantitativnih karakteristika ejakulata (*Araujo i sar. 2011*). I pored toga što pojedini autori nisu utvrdili statistički značajne razlike u progresivnoj pokretljivosti spermatozoida između različitih starosnih kategorija nerastova (*Šernienė i sar., 2002*), ipak *Jankevičiūtė i Žilinskas (2002)* navode da je progresivna pokretljivost spermatozoida najveća kod nerastova starosti od 18 do 24 meseca, a najniža kod nerastova starijih od 30 meseci. Progresivna pokretljivost spermatozoida je jako povezana sa i procentat promenetih spermatozoida i tip morfoloških promena spermatozoida u ejakulatu (*Gil i sur. 2009*). Procent

abnormalnih spermatozoida je veći kod veoma mladih i starih nerastova. Rezultati koji su dobili *Tsakmakidis i sar. (2012)* pokazali su da najmanje morfometrijske promene i najmanji procent spermatozoida sa hromozomskom nestabilnošću uočen kod nerastova starosti od 18 – 33 meseci. Morfometrijske abnormalnosti spermatozoida kao i veći procent oštećenja hromozoma, autori su utvrdili kod mlađih nerastova (7 - 10 meseci) što objašnjavaju problemima koji se javljaju tokom maturacije spermatozoida, dok kod starijih nerastova (51 – 61 meseca) ove abnormalnosti prepisuju visokom nivou apoptoze ćelija epididimisa, niskom nivou testosterona i povećanom oksidativnom stresu tkiva (*Jara i sar., 2004*).

Rezultati navedenih istraživanja ukazuju da uzrast utiče na kvalitet ejakulata, a time i mogućnost reproduktivnog iskorišćavanja nerasta. Uglavnom, priplodni kapacitet dostiže svoj maksimum sa oko 3 godine starosti što se i smatra optimalnim vremenom eksploatacije nerasta. *Huang i sar. (2010)* navode da nerastovi rase Durok mogu biti korišteni do 4 godine starosti sa mogućnost produženja tog perioda do 6 godina samo ako se uzgajaju u strogo kontrolisanim uslovima.

3.5.4. Godišnja sezona

Godišnja sezona ima uticaj na kvalitet sperme nerasta, pri čemu se menjaju kvantitativne i kvalitativne osobine ejakulata (*Savić, i sar., 2015*)(Tabela br 4). Nerastovi domaćih rasa proizvode fertilnu spermu tokom cele godine, ali utvrđeno je značajno variranje parametara kvaliteta (fertilizacionog potencijala) u različitim godišnjim sezonama, što ukazuje da je godišnja sezona vrlo značajan spoljašnji (paragenetski) faktor koji bitno utiče na fertilitet nerastova (*Ciereszko i sar., 2000; Smital, 2009; Lapuste i sar., 2011; Stančić i sar., 2011; Stančić i sar., 2012; Stančić i sar., 2013; Savić i sar., 2013*).

Sezonsko variranje kvantitativnih i kvalitativnih osobina ejakulata, određeni autori objašnjavaju uticajem temperature sredine i dužinom trajanja fotoperioda (*Savić, R. R., 2015*). Koncentracija testosterona u krvnoj plazmi varira između godišnjih sezona (*Cheon i sar., 2002*). Određeni autori su konstatovali da u periodu jesen – zima dolazi do znatnog povećanja produkcije spermatozoida u testesima nerasta na dnevnom nivou (*Smital i sar., 2004*).

Divlji nerastovi su izrazito sezonski polno aktivni u godišnjem periodu sa znatno kraćim dnevnim fotoperiodom i nižim ambijentalnim temperaturama (*Kozdrowski i Dubiel, 2004*) i smatra se da su ovaj fenomen domaće rase svinje nasledili od svojih divljih srodnika (*Apić, 2015*). Sezonske varijacije u kvantitetu i kvalitetu ejakulata posledica su delovanja različitog

trajanja dnevnog fotoperioda, kao i različitog delovanja dnevnih ambijentalnih temperatura. Tokom sezone sa kraćim trajanjem dnevnog fotoperioda, povećava se osetljivost testisa na delovanje endogenog LH i povećava se sinteza i sekrecija testosterona. Tako se povećava produkcija androgena čime se stimuliše spermatogeneza i povećava se dnevna produkcija spermatozoida (*Kunavongkrit i sar., 2005*).

Za normalnu spermatogenezu potrebna je niža intratestikularna temperatura za 5°C do 7°C od normalne telesne temperature, a povišena temperatura ima negativan efekt na proces spermatogeneze (*Setshell, 1998*). Ako u procesu spermatogeneze temperatura testisa dostigne 40,5°C, može doći do oštećenja spermatogenih ćelija, zbog čega razna oboljenja, povezana se povišenom temperaturom, mogu imati za posledicu poremećaj spermatogeneze (*Cheon i sar., 2002*). Veliki broj istraživanja od različitih autora pokazali su da su parametri kvaliteta sperme nerasta značajno niži tokom toplije, u odnosu na hladniju sezonu godine (*Claus i sar., 1985; Colenbrander i Kemp, 1990; Liao i sar., 1996; Ciereszko i sar., 2000; Stančić i sar., 2002; Corcuera i sar., 2002; Stančić i sar., 2003; Sancho i sar., 2004; Lapuste i sar., 2011; Kunowska-Slósarz i Makowska, 2011*).

Huang i sar.(2000) su utvrdili da se pod uticajem povišene temperature volumen ejakulata nije smanjio, a smanjuje se broj normalnih spermatozoida, broj progresivno pokretnih spermatozoida, dok se broj morfološki abnormalnih i mrtvih, kao i broj spermatozoida sa nenormalnim akrozomom povećao.

Wolf i Smital (2009a) su ustanovili da je volumen ejakulata najveći u periodu septembar-decembar, a najmanji u periodu mart-maj, a koncentracija sperme je najveća u kasnu zimu i proleće (januar-jun) i najmanja u kasno leto i jesen (avgust-septembar). Što se tiče pokretljivosti spermatozoida, odstupanja od ukupnog godišnjeg proseka su relativno mala (od -0,25% u decembru do 0,28% u martu i aprilu), abnormalnih spermatozoida u ejakulatu pod uticajem sezone varira manje od 0,5% u odnosu na godišnji prosek, a ukupan broj i broj funkcionalnih spermatozoida je najveći u zimskom periodu, a najmanji u letnjem. Uticaj godišnje sezone na kvalitet ejakulata je izražen, pri čemu su najmanje vrednosti osobina ejakulata utvrđene u letnjem periodu, a najveće u jesen i zimu (*Smital, 2009*). Broj fertilnih (progresivno pokretnih) spermatozoida u ejakulatu je najveći u jesen (75×10^9) i zimu (72×10^9), a značajno manji u proleće (68×10^9) i leto (70×10^9) (*Smital i sar., 2004*). Nerastovi koji su bili izloženi toplotnom stresu pokazali su povećanje broja abnormalnih spermatozoida, a kod takvih nerastova smanjena

je pokretljivost, volumen ejakulata i ukupan broj spermatozoida. Ovi simptomi se ispoljavaju unutar nekoliko nedelja posle delovanja visokih temperatura i potrebno je 45-50 dana za oporavak, a sve ovo zavisi od jačine i dužine trajanja stresora (Wilson i sar., 2004). Isti autori navode da temperature više od 30°C izazivaju značajno smanjenje u pokretljivosti spermatozoida. Dugotrajan (hroničan) temperaturni stres (duži od 2 nedelje, na temperaturi preko 30°C) značajno smanjuje dnevnu produkciju spermatozoida i broj progresivno pokretnih spermatozoida u ejakulatu (Knox, 2004). Broj (%) progresivno pokretnih spermatozoida se ne vraća na normalnu vrednost 5 nedelja posle početka izlaganja nerasta povišenoj ambijentalnoj temperaturi (Wettemann i sar., 1979). Lipensky i sar. (2010) su ustanovili da je procent morfološki abnormalnih spermatozoida značajno niži u hladnoj (19%) u odnosu na toplu sezonu (25%). Broj dobrih ejakulata (progresivna pokretljivost $\geq 65\%$, volumen ejakulata ≥ 120 ml, koncentracija spermatozoida $\geq 200 \times 10^6/\text{ml}$) znatno je veći tokom hladne (86.5%), u odnosu na topli period godine (73.5%) (Stančić i sar., 2012).

S obzirom na varijabilnost osobina sperme u zavisnosti od sezone, potrebno je obezbediti adekvatne mikroklimatske uslove u objektima za smeštaj nerasta, naročito u letnjim mesecima, jer je to jedini način za dobijanje sperme sa optimalnim kvantitativnim i kvalitativnim parametrima.

Tabela br. 4. Uticaj sezone na parametre kvaliteta ejakulata nerasta (preuzeto iz Apić, 2015)

T o p l a s e z o n a ¹				H l a d n a s e z o n a ²				Izvor (autori)
V (ml)	Ko ($\times 10^6/\text{ml}$)	Ub ($\times 10^9$)	Pp (%)	V (ml)	Ko ($\times 10^6/\text{ml}$)	Ub ($\times 10^9$)	Pp (%)	
229	208	47.6	72	265	214	56.7	80	Stančić i sar.(2003a)
222	202	45.0	72	271	211	57.2	79	Katanić (2004)
261	-	-	81	408	-	-	87	Okere i sar. (2005)
274	343	93.7	72	275	89.8	323	71	Kondracki i sar. (2009)
226	215	56.0	85	290	301	87.3	73	Stančić i sar. (2012)
224	210	47.0	80	269	260	70.0	72	Stančić i sar. (2013)

¹Maj - Oktobar, ²Novembar - April. V- Volumen ejakulata, Ko - koncentracija, Ub - ukupan broj i Pp - progresivna pokretljivost spermatozoida u ejakulatu.

3.6. REPRODUKTIVNE OSOBINE KRMAČA

Kada se govori o reproduktivnoj efikasnosti zapata, prvenstveno se misli na ostvareni procenat povadanja i procenat prašenja. S obzirom na široku primenu veštačkog osemenjavanja i broj plotkinja koje bivaju osemenjene spermom jednog nerasta tokom određenog perioda, poznavanje vrednosti parametara ejakulata/inseminacione doze je utoliko veća i predstavlja nezaobilazan segment kontrole produktivnosti nerasta (*Savić, 2015*).

Reproduktivna efikasnost krmača ocenjuje se na osnovu više parametara, ali osnovni parametar reproduktivne efikasnosti krmača je broj zalučene prasadi po krmači godišnje (*Wilson i Dewey, 1994; Stančić, 1994; Koketsu, 2005; Stančić, 2005; Tanaka i Koketsu, 2007*). Broj zalučene prasadi po krmači godišnje je direktan proizvod broja prašenja po krmači godišnje i broja zalučene prasadi po leglu (*Stančić, 2005*). Ovaj broj zalučene prasadi po krmači zavisi od više faktora od kojih najznačajniji su trajanje reproduktivnog ciklusa, trajanje perioda reproduktivnog iskorištavanja krmača i od prosečnog broja živo rođene prasadi i stepen mortaliteta prasadi tokom laktacije (*Koketsu, 2005; Tanaka i Koketsu, 2007*).

Reproduktivni ciklus krmača sastoji se iz tri faze: bremenitosti, laktacionog perioda i perioda od zalučenja do uspešne oplodnje. Trajanje reproduktionog ciklusa ili intervala između dva uzastopna prašenja zavisi od većeg broja činilaca i tehnologije držanja. Istraživanje koje su radili *Schwarz i sar. (2009)* prosečno trajanje reproduktionog ciklusa bilo je $152,8 \pm 9,9$ dana, a koje je uključivalo 115,9 dana gestacije, 24 dana laktacionog perioda i 10,2 dana između zalučenja i estrusa. Bremenitost je biološka karakteristika vrste male fenotipske varijabilnosti, a trajanje laktacionog perioda uslovljeno je menadžmentom farme. Intervali od zalučenja legla do pojave estrusa, odnosno od zalučenja legla do oplodnje najviše variraju.

U većem broju istraživanja utvrđeno je da krmače sa kratkim intervalom zalučenja - estrus (do sedam dana) imaju veću vrednost prašenja u procentima, odnosno procent uspešnog osemenjavanja u prvom postlaktaciskom estrusu iznosi 80 % do 90 % i ove krmače rađaju veći broj živorođene prasadi po leglu (11 do 13) u odnosu na krmače u kojih je ovaj interval duži, kod kojih procenat uspešnog osemenjavanja iznosi 60 % do 77 %, a broj živorođene prasadi iznosi 8,5 do 10,5 po leglu (*Le Cozler i sar., 1997; Stančić, 1997a; Stančić, 1997b; Borchart Netto, 1998; Jotanović, 2000; Stančić i sar., 2000; Timotijević i sar., 2003*). Kod zdravih krmača kod kojih laktacija traje 4 do 6 nedelja, interval zalučenje – estrus iznosi 7 dana. Ako je ovaj interval duži, može doći do pojave reproduktivnih poremećaja i pokazatelj je nižeg reproduktivnog

kvaliteta krmača. U dobrim zapaatima, znaci estrusa unutar prvih 7 dana posle zalučjenja, mogu se javiti u preko 85 % krmača (*Tubbs, 1990; Napel i sar., 1998; Stančić, 2005; Koketsu, 2007*).

Koliki će biti interval zalučjenje – estrus zavisi od više faktora, a najznačajniji su: paritet prašenja (*Timotijević i sar., 2003*), ishrana krmača, osobito tokom laktacije, onda samo trajanje laktacije (*Tubbs, 1990*), godišnja sezona (*Stančić i sar., 2010*) uslovi smeštaja krmača (*Hemsworth, 1982*), tretman hormonalnim preparatima (*Stančić i sar., 2010*) i infektivne bolesti, posebno reproduktivnih organa i vimena, (*Hogg i Levis, 1997; Waller i sar., 2002; Stančić i sar., 2011*). Prema istraživanjima nekih autora, postoji mogućnost genetske predispozicije krmača za dužinu trajanja intervala zalučjenje – estrus (*Hoshino i Koketsu, 2008*).

Trajanje ovih intervala (perioda) zavisi od: genotipa, rednog broja prašenja, trajanja prethodne laktacije, sezone pripusta, prisustva nerasta, ishrane i drugih determinisanih i nedeterminisanih uticaja. U praksi se vrlo često dešava da posle zalučjenja legla znaci estrusa budu slabiji, usled čega se estrus ne detektuje i krmača ne bude osemenjena. Zapravo, time se produžava reprodukcioni ciklus što se negativno odražava na plodnost zapata.

Jedan od važnijih parametara reproduktivne efikasnosti krmača je vrednost prašenja koja označava procentualni odnos broja oprašenih od broja osemenjenih krmača (*Koketsu, 2005; Stančić, 2005*). Ova vrednost u zapaatima gde krmače imaju visoku reproduktivnu efikasnost, kreće se od 85 % do 90 % (*López i Milling, 2008; Yuong i sar., 2010*). Vrednost prašenja zavisi od više faktora koje generalno možemo podeliti u dve grupe: (1) faktori koji utiču na samu inseminaciju krmača, kao tačno otkrivanje estrusa, kvalitet upotrebljene sperme, pravilno izvođenje tehnike inseminacije i pravilan postupak sa krmačom neposredno posle inseminacije (*Kemp i Soede, 1996; Spronk i sar., 1997; Stančić i Šahinović, 1998; Stančić i Radović, 2004*) i (2) faktori koji utiču na ukupno intrauterino preživljavanje embriona i fetusa (*Gagrčin i sar., 2003; Stančić, 2005; López i Milling, 2008*), što je najčešće posledica delovanja agenasa infektivne etiologije (*Vanroose i sar., 2000; Stančić i sar., 2010; Stančić i sar., 2011*). Istraživanja koja su radili *Stančić i sar. (2011)*, na većim vojvođanskim farmima, pokazala su da je prosečna vrednost prašenja iznosila 77 %, od čega 65 % je bilo kod prvopraskinja, a 74 % do 78 % kod krmača koji su se prasile više puta.

Odgajivačima je bitna proizvodnja što većeg broja zdrave zalučene prasadi, zbog čega je broj živorođene prasadi u leglu vrlo bitan. Broj živorođene prasadi u leglu predstavlja veoma važan parametar reproduktivne efikasnosti krmača u zapaatima intenzivne proizvodnje svinja, a

zavisi od ovulacione vrednosti u fertilnom estrusu, broja oplodjenih od broja ovuliranih oocita, stepena intrauterinog preživljavanja embriona i fetusa i od mortaliteta plodova tokom prašenja (Trujillo-Ortega i sar., 2007; Stančić, 2005; Stančić i sar., 2004). Rentabilnost svinjarske proizvodnje zavisi i od gubitaka tokom dojnog perioda. Broj živo rođene prasadi u leglu, varira između 8,5 i preko 12 prasadi, zavisno od brojnih genetskih (rasa, linija, kombinacija meleženja, stepen inbreedinga) i paragenetskih faktora (paritet prašenja, ishrana, smeštaj, zdravstveni status krmača i godišnja sezona) (Todd, 2000; Tummaruk i sar., 2000; Gagrčin i sar., 2002; Radović i sar., 2006; Kovičičin i sar., 2008; Radović i sar., 2010; Stančić i sar., 2011). Broj živorođene prasadi se povećavao od prvog do trećeg prašenja (Suarez i sar., 2004). Povećanje broja živorođene prasadi od prvog do trećeg prašenja ustanovljeno je i u istraživanju Logar i sar. (1999) (od 8,76 do 10,45 prasadi), Petrović i sar. (2000) (od 9,52 do 10,68 prasadi), Vinceka (2005), (od 9,02 do 10,17 prasadi). Rezultati istraživanja Petrović (1990) pokazali su da je sa starošću nerasta korišćenih za osemenjavanje došlo do smanjenja broja ukupno rođene prasadi sa 10,39 na 10,17 pri čemu je starost nerasta pri oplodnji statistički značajno uticala na broj mrtvorodene prasadi u leglu. Godišnja sezona nije uticala na variranje osobina veličine legla (Radojković i sar., 2007).

Broj zalučene prasadi po leglu, primarno zavisi od broja živo rođene i broja uginule prasadi tokom laktacije. Pojava dijareja izazvanih E.coli i prignječenja prasadi su neki od razloga gubitaka tokom dojnog perioda. Broj uginule prasadi tokom laktacionog perioda povećava se sa povećanjem rednog broja prašenja (Schwarz i sar., 2009). Ovaj broj može značajno varirati, zavisno od brojnih faktora, kao što su tehnološki i higijenski uslovi smeštaja krmača i legla tokom laktacije, ishrane krmača u zadnjoj trećini gestacije i tokom laktacije, broja prasadi u leglu, pariteta krmače, raznih infektivnih i alimentarnih obolenja krmače i prasadi i trajanja laktacije (Stančić, 2005). Razlog većih gubitaka u višim paritetima može biti i slabija mlečnost krmača ali i pojava MMA sindroma (Mastitis-Metritis-Agalactia). Oni su ustanovili da je 11% analiziranih laktacija prekinuto u prvoj nedelji. Standardna procedura na velikim farmama je upotreba tzv. krmača pomajki kojima se dodaju prasad iz prekobrojnih legala, legala sa agalakcijom krmače ili u slučaju uginuća krmače. Ovo je jedan od načina kojima se teži smanjenju gubitaka tokom laktacionog perioda. Međutim, ova tehnološka operacija ne doprinosi objektivnosti prilikom procene priplodne vrednosti.

3.7. KONTROLA KVALITETA SPERME

Veštačko osemenjavanje, svinja se široko praktikuje u zemljama sa intenzivnom proizvodnjom svinja. U zapadno evropskim zemljama, kod više od 90% krmača vrši se veštačko osemenjavanje (*Gerrits i sar., 2005., Vit, 2007*). U poređenju sa prirodnim parenjem, veštačko osemenjavanje je veoma koristan alat za uvođenje superiornih gena u stada, sa minimalnim rizikom od bolesti (*Maes i sur., 2008*). Isti autori tvrde da ishod od veštačkog osemenjavanja krmača i nazimica u velikoj meri zavisi od kvaliteta sperme. Konvencionalna procena kvaliteta semena nerastova, kao segment tehnologije veštačkog osemenjavanja, uveliko je praksa na našim komercijalnim farmama (*Bojkovski i Vakanjac, 2014*).

Uzimanje sperme nerasta i proizvodnja semena za veštačko osemenjavanje krmača i nazimica vrši se u centrima za veštačko osemenjavanje, farmskim centrima, manjim reproduktivnim centrima u privatnom vlasništvu ili u vlasništvu udruženja (asocijacija) odgajivača svinja. Kontrola kvaliteta semena u veterinarskoj medicini ima dugu istoriju i evoluciju kroz brojne metode ispitivanja. Tradicionalne - klasične metode ispitivanja podrazumevaju određivanje progresivne pokretljivosti, vitalnosti, koncentracije i morfologije spermatozoida (*Milovanović i sar., 2013*). Podaci iz literature, ukazuju da su ovi parametri u različitoj korelaciji sa plodnošću, od $r=0,06$ do $r=0,86$, i da ni jedan od ovih testova nije u konzistentnoj korelaciji sa plodnošću. (*Graham i sar., 1980; Amann 1989; Quintero-Moreno i sar., 2004; Didion, 2008*).

Od kvaliteta spermatozoida koji se nalaze u spermalnoj plazmi primarno zavise fertilizacioni potencijal, kao i broj inseminacionih doza, koji se može formirati od jednog ejakulata (*Vyt i sar., 2008; Tsakmakidis i sar., 2010*). Zbog toga svaki ejakulat treba biti ispitan, pre njegove upotrebe za veštačko osemenjavanje (*Roseboom, 2000; Knox, 2004; Milovanović i sar., 2012*). Naročito u situacijama kada je potrebno definisati nerastove visokog fertiliteta, koji će biti upotrebljeni za poboljšanje fertiliteta veštački osemenjenih krmača (*López Rodríguez, 2012*), jer postoji značajno variranje u parametrima kvaliteta ejakulata između pojedinih nerastova, ali i individualno variranje pojedinih ejakulata (*Maes i sar., 2011*). Ispitivanje kvaliteta ejakulata obuhvata određivanje makroskopskih i mikroskopskih vrednosti parametara (*Dimitrov i sar., 2000*).

3.7.1. Makroskopski parametri ejakulata

Najvažnije makroskopski parametri ejakulata su volumen, gustina, boja i miris.

Volumen ejakulata

Volumen ejakulata izražava se u mililitrima (ml) i meri se neposredno po uzimanju od nerasta, u graduisanom spermosabiraču ili menzurom u laboratoriji za kontrolu kvaliteta sperme. Količina ejakulata značajno varira pod uticajem mnogih faktora, među kojima su najznačajniji rasa i starost nerasta, frekvencija uzimanja ejakulata, kao i godišnja sezona. Volumen ejakula se, obično, kreće između 200 ml i 300 ml. (*Stančić i sar., 2000; Smital, 2009*). Dakle *Kyriazakis i Whittemore., (2006)* su utvrdili da je interval varijacije ove osobine širok i može biti od 100 do 500 ml. Velikom volumenu ejakulata u najvećoj meri doprinose sekreti akcesornih polnih žlezda (*Rothschild i Ruvinsky, 2011*). Dobar ejakulat bi trebao da ima volumen 120 ml do 150 ml (*Roseboom, 2000*). Isto tako treba se napomenuti da volumen ejakulata značajno utiče na stepen razređenja, potreban da se formira ustanovljen broj mogućih VO doza od datog ejakulata (*López Rodríguez, 2012*). Samo analiza volumena ejakulata sperme nije dovoljna, pošto ejakulati sa većim volumenom sadrže nizak procenat progresivno pokretljivih odnosno funkcionalnih spermatozoida, tako da je potrebno uzeti u obzir i sve ostale osobine.

Gustina sperme

Gustina sperme u praktičnim farmskim uslovima u slučaju nepostojanja objektivnih mernih uređaja, ocena gustine sperme može se vršiti i deskriptivno (retka, srednje retka i gusta). Gustina ejakulata zavisi od koncentracije spermatozoida u 1 ml sperme. Kod guste sperme se uočava turbulentno kretanje spermalne mase, zbog velikog broja pokretnih spermatozoida (*Stančić, 206 ; B I SAR 2006 ; Nikolov i sar., 2012*).

Boja ejakulata

Prosečno dobar ejakulat treba da ima mlečno-belu boju. Boja ejakulata kod nerasta se kreće od plavkasto-bele (retka sperma) do žućkasto-bele (gusta sperma), (*Roseboom, 2000; Nikolov i sar., 2012*). Boja ejakulata može biti i promenjena, ako u ejakulatu ima prisustva stranih (neprirodnih) materija. Ako u ejakulatu ima prisustvo prljavštine, prašine, fecesa, urina ili gnoja, boja će biti sivkasto-prljava ili žućkasto-prljava. Prisustvo gnoja ukazuje na upalne procese u organima urogenitalnog trakta. Crvenkasto-braon boja ukazuje na prisustvo razorenih eritrocita ili infekcije prostate. Crvenkasto-rozikasta boja ukazuje na prisustvo krvi, kao posledice lezija u genitalnom traktu, dok zelenkasto-plavičasta boja ukazuje na oligospermiju (*Dimitrov i sar., 2000; Frunžá i sar., 2008; Nikolov i sar., 2012*).

Miris ejakulata

Miris ejakulata treba da podseća na prirodan miris nerasta i da nije suviše intenzivan. Različiti drugi, intenzivni mirisi potiču od prisustva raznih neprirodnih materija u spermi, kao i od mirisa koji se razvijaju kod nečistih nerastova i u nečistim (prljavim i neprovetrenim) stajama za smeštaj nerastova (*Stančić, 2006; Nikolov i sar., 2012*).

3.7.2. Mikroskopski parametri ejakulata

Najvažniji mikroskopski parametri ejakulata su koncentracija spermatozoida u 1 ml i ukupan broj spermatozoida u ejakulatu, morfologija i vitalnost spermatozoida, pokretljivost spermatozoida i integritet akrozomalne membrane.

Koncentracija spermatozoida

Koncentracija spermatozoida se izražava brojem spermatozoida u 1 ml ejakulata, dok je ukupan broj spermatozoida u ejakulatu proizvod koncentracije spermatozoida i volumena ejakulata, izraženog u ml. Tako se koncentracija spermatozoida kreće od 100×10^6 do 600×10^6 spermatozoida po 1 ml ejakulata. Za veštačko osemenjavanje se uzimaju ejakulati koji imaju minimalno $\geq 120 \times 10^6$ spermatozoida u 1 ml (*Roseboom, 2000; Knox, 2004*). Ovo je važan parametar kvaliteta ejakulata, jer primarno određuje broj inseminacionih doza, koji se može napraviti od jednog ejakulata. Osim toga, permanentno praćenje ovog parametra ukazuje na efikasnost i kontinuiranost produkcije sperme kod nerasta (*Maes i sar., 2011; López Rodríguez, 2012*). Koncentracija, odnosno ukupan broj spermatozoida u ejakulatu se može odrediti primenom nekoliko metoda: (a) hemocitometrija, (b) fotometrija, (c) protočna citometrija i (d) kompjuterizovana analiza sperme (CASA - computer assisted semen analysis (*Maes i sar., 2011*)).

(a) **Hemocitometrija.** Kod ove metode koristi se staklena komorica (hemocitometar) za brojanje krvnih elemenata i melanžer za leukocite, u kome se vrši razređenje native sperme 3% vodenim rastvorom NaCl, u odnosu 1:10 ili 1:20. Postoji nekoliko vrsta hemocitometara (Neubauer, Thoma i Bürker-Türk). Ovo je klasična metoda određivanja koncentracije spermatozoida i daje dovoljno precizne rezultate za svakodnevnu primenu (*Christensen i sar., 2005*). Rezultati dobijeni ovom metodom dosta variraju (4% do 20%), zavisno od preciznosti pripreme uzorka, kao i od preciznosti tehničara, koji vrši brojanje pod mikroskopom (*López Rodríguez, 2012*).

(b) **Fotometrija.** Ova metoda se uobičajeno koriste u praksi, jer je brza i jednostavna za izvođenje (*Maes i sar., 2011*). Fotometrija, predstavlja merenje optičke gustine, odnosno relativna apsorpcija i rasipanje svetlosnog snopa, koji je prošao kroz uzorak sperme. Apsorpcija i rasipanje su proporcionalni koncentraciji spermatozida u uzorku. Međutim, pored koncentracije spermatozoida, na preciznost merenja utiču i gel čestice u spermalnoj plazmi ili razređivaču, zatim eventualne nečistoće u kivetu sa uzorkom, kao i stepen, odnosno tačnost razređenja uzorka (*Knox, 2004*).

(c) **Protočna citometrija.** Protočnom citometrijom je moguće analizirati integritet membrane akrozoma i membrane spermatozoida, strukturu hromatina i status fosfolipidne ovojnice, kao i morfološko i funkcionalno stanje membrana organela i prisustvo odvojenih odeljaka (*Milovanović i sar., 2013*). Ova metoda ima osnovnu prednost zato što može brojati veliki broj spermatozoida u vrlo kratkom vremenskom periodu (za manje od 1 minut). Protočnom citometrijom se meri distribucija različitih boja u populaciji spermatozoida u uzorku. Ova metoda koristi, fluorescentne boje, koje različito prebojavaju intaktne i oštećene spermatozoide. Na taj način se meri odnos intaktnih i oštećenih spermatozoida, odnosno ukupna koncentracija spermatozoida u uzorku, odnosno ejakulatu. Glavni nedostatak ove metode je taj što nije sposobna da pravi razliku između kapljica gela i partikula u spermi, kao i nebojenih spermatozoida (*López Rodríguez, 2012*). Isto tako, ova metoda je dosta skupa i zahteva kvalifikovano osoblje, pa nije pogodna za široku praktičnu upotrebu (*Christensen i sar., 2004*).

(d) **Kompjuterizovana analiza sperme (CASA - computer assisted semen analysis).** Ova metoda se smatra objektivnom i pouzdanom, ali relativno skupom, pa se koristi u velikim centrima za veštačko osemenjavanje, odnosno proizvodnju inseminacionih doza od genetski superiornih nerastova (*Maes i sar., 2011; Dziekońska i Strzeżek, 2011*). Kompjuterizovana analiza sperme, koristi analizu slike u komorici za brojanja, na osnovu koje određuje broj, odnosno koncentraciju spermatozoida (slika br. 2). Tačnost ovog sistema ne zavisi samo od optičkih svojstava i podešenosti softvera, nego i od vrste komorice za brojanje koja se koristi (*Kuster, 2005*).



Slika 2. Oprema za kompjuterizovanu analizu sperme (CASA - computer assisted semen analysis) <http://www.oocities.org/medicacentar/Spermogram.htm>

Morfologija spermatozoida

Mikroskopskim pregledom se može utvrditi morfologija (normalno i abnormalno građeni spermatozoidi), integritet ćelijske membrane spermatozoida i abnormalnosti akrozoma. Ovo su tri osnovna parametra koji primarno utiču na fertilizacioni potencijal spermatozoida. (Maes i sar., 2011). Povećan broj abnormalnih spermatozoida u ejakulatu smanjuje oplodnu sposobnost sperme, tako da se mora uzeti u obzir broj abnormalnih spermatozoida pri pripremi doza za osemenjavanje. Važno je identifikovati koja je anomalija u pitanju i da li je posledica naslednog poremećaja ili nekog negativnog spoljašnjeg uticaja (Savić, 2015). Isto tako, sa različitim histološkim metodama bojenja, mogu se, pod mikroskopom, ustanoviti različite anomalije morfologije spermatozoida, ćelijske membrane i akrozoma. Najčešće se koristi jednostavna metoda bojenja po Blom-u (eozin-nigrozin bojenje), na osnovu kojeg se mogu odrediti živi i mrtvi, odnosno morfološki promenjeni spermatozoidi (Apić, 2015). Za preciznija morfološka ispitivanja moguće je koristiti i druge metoda kao što su: kompjuterizovana analiza sperme (CASA), protočna citometrija, a isto tako može se koristiti i metoda osmotske rezistencije i ćelijskog volumena spermatozoida. Osmotska rezistencija spermatozoida nerasta je u korelaciji sa rezultatima fertiliteta (Pérez-Llano i sar., 2001)

Sperma sa lošom morfologijom spermatozoida daje niske rezultate veštački osemenjenih krmača (*López Rodríguez, 2012*). Morfološki normalnih spermatozoida, u ejakulatima koji se koriste za VO, treba da bude najmanje 70% (*Tsakmakidis i sar., 2010*).

Pokretljivost spermatozoida

Pokretljivost je najvažnija osobina koja utiče na fertilizacioni kapacitet spermatozoida (*Feitsma, 2009*). Pokretljivost predstavlja procentualno učešće spermatozoida koji se aktivno kreću pravo napred i veoma je važna za uspešnu penetraciju zone pelucide oocita, u procesu oplodnje. Ocena pokretljivosti spermatozoida je najvažniji parametar sperme (*Kunowska-Słószarz i Makowska, 2011*). Određivanje stepena (%) progresivne pokretljivosti je primarni faktor procene fertilizacionog potencijala ejakulata (*Gadea, 2005*). Stepem progresivne pokretljivosti spermatozoida se može odrediti: (a) vizuelnim posmatranjem pod svetlosnim mikroskopom (uveličanje $\times 400$ do $\times 1000$), (b) CASA sistemom, (c) opremom za analizu kvaliteta sperme (Sperm Quality analyzer - SQA) (*Apić, 2015*).

Integritet akrozomalne membrane.

Akrozomalna membrana pokriva 2/3 glave spermatozoida i sadrži enzime, potrebne za penetraciju oocita, tokom procesa oplodnje (*Bajčev i sar. 2007*). Zbog toga, dobri ejakulati moraju imati više od 51% spermatozoida sa normalnim akrozomom (*Roseboom, 2000*). Anomalije građe akrozoma se mogu ispitivati primenom različitih metoda bojenja i pregledom takvih preparata fazno-kontrastnom mikroskopijom (*Maes i sar., 2011*) ili protočnom citometrijom (*de Andrade i sar., 2007*). Duboko zamrzavanje značajno povećava broj živih spermatozoida sa oštećenim akrozomom (*Jovičin, 1991; Nikolov i sar., 2012*).

Aksesorni spermatozoidi u zoni pelucidi oocita

Aksesorni spermatozoidi u zoni pelucidi oocita su veoma važni za uspešnu oplodnju. Zbog toga je brojanje ovih spermatozoida u zoni pelucidi, dosta precizan metod ocene njihove vitalnosti i fertilizacionog kapaciteta. Obično se broj aksesornih spermatozoida kreće između 20 i 40 (*López Rodríguez, 2012; Nikolov i sar., 2012*). Ovo ispitivanje se izvodi, tako što se ovulirani oociti, isprani iz jajovoda nazimica ili krmača, inkubiraju *in vitro* sa kapacitiranim spermatozoidima. Nakon 24h inkubacije, pod mikroskopom se vrši brojanje spermatozoida u zoni pelucidi. Samo spermatozoidi sa intaktnim akrozomom mogu da izvrše penetraciju zone pelucide oocita (*Waberski i sar., 2005*).

Broj proizvedenih doza po ejakulatu

Broj proizvedenih doza po ejakulatu ne zavisi samo od volumena ejakulata, već i od gustine i pokretljivosti spermatozoida. Prema podacima iz zemalja EU prosečan volumen doze je 100 ml sa 4×10^9 progresivno pokretljivih spermatozoida (*Stančić i sar., 2009b*). Kada postoji objektivna kvantitativno-kvalitativna analiza ejakulata moguća je produkcija standardizovanih doza za osemenjavanje, pri čemu se nerastovi mogu racionalnije koristiti. U slučaju kada se ocena kvaliteta ejakulata vrši deskriptivnim ili subjektivnim metodama, doze za osemenjavanje su standardizovane samo u pogledu volumena.

Razlike u prosečnim vrednostima osobina sperme između centara za veštačko osemenjavanje su posledica različitih spoljašnjih uslova, ishrane, intenziteta iskorišćavanja, metoda uzimanja sperme ili tačnosti metoda ocene (*Wierzbicki i sar. 2010*).

3.8. UNAPREĐENJE OSOBINA PLODNOSTI NERASTA

Veliki broj potomaka po nerastu na godišnjem nivou ukazuje na potrebu kontrole produktivnosti nerastova i razvoj metoda kojim će se objektivnije izvršiti ocena reproduktivnog potencijala nerasta. Potreban je razvoj testova kojima će se vršiti tačno rangiranje relativne plodnosti nerastova i procedura za proveru njihovih reproduktivnih performansi (*Flowers, 2009*). Nerastovi su selekcionisani na osobine koje imaju primarni ekonomski značaj kao što su brzina porasta ili uzrast pri određenoj telesnoj masi, debljina slanine i produktivnost njihovih kćeri (*Robinson i Buhr, 2005*).

Uspešnost osemenjavanja i veličina legla između najboljeg i najlošijeg nerasta može biti do 20%, odnosno 2,5 živorođena praseta, što ukazuje na značaj ispitivanja plodnosti nerasta (*Kovač i Malovrh, 2005*).

Unapređenje osobina plodnosti nerasta će i ubuduće biti fokus mnogih istraživanja. Povezanost između osobina plodnosti je značajna za selekcijski rad, odnosno izbor metoda selekcije i njen uspeh (*Radojković i sar., 2005*). Konvencionalne metode oplemenjivanja ostaće važne, ali će metode molekularne genetike imati sve veće učešće i omogućiti raniju identifikaciju potencijalne plodnosti nerastova još pri rođenju i mnogo efikasniju selekciju (*Safranski, 2008*). Novija istraživanja fertiliteta nerasta pokazuju povezanost *in vivo* plodnosti nerasta sa proteinima seminalne plazme, a rezultati istraživanja *Novak i sar. (2010)* ukazuju na nekoliko proteina seminalne plazme i njihov značaj u budućim istraživanjima kao markera kvaliteta ejakulata i plodnosti nerasta.

3.9. SPERMALNA PLAZMA

Semena plazma je kompleksan sekretorni produkt koji se proizvodi u polnim žlezdama (*glandulae vesiculares, glandula prostatica i glandulae bulbourethrales*), rete testisa i epididimisa (*Bajčev i sar. 2007*). Preko 90% volumena semene plazme potiče iz akcesornih polnih žlezda, od čega je najveći deo iz vezikularnih žlezda. Prilikom ejakulacije, sekret akcesornih polnih žlezda se meša sa spermatozoidima, na koji način nastaje sperma (*Nasrini Calogero, 2012*). Prva ejakulacija kod nerasta se dešava u starosti od 5 do 8 meseci, pri čemu se broj spermatozoida i volumen ejakulata kontinuirano povećavaju tokom prvih 18 meseci života (*Kyriazakis i Whittemore, 2006*).

Semena plazma je tečni medijum ejakulata koji primarno obezbeđuje transport i vitalnost spermatozoida kroz ženski reproduktivni trakt (*Muiño-Blanco i sar., 2008; Rodriguez-Martinez i sar., 2011*). U svom sastavu, semena plazma sadrži nutritivne, gradivne komponente i komponente koje imaju protektivni efekat spermatozoida (*Centurion i sar., 2003; Garcia i sar., 2010*). Naime, sadrži materije koje obezbeđuju resurse energetskog metabolizma spermatozoida, enzimske sisteme (katalaza, fosfataza, mucinaza, hialuronidaza, tripsin, amilaza, lipaza i holinesteraza) koji direktno utiču na parametre spermatozoida (pokretljivost i koncentracija spermatozoida) i optimalne koncentracije jona koji obezbeđuju optimalni osmolaritet i optimalnu pH sredine (*Bajčev i sar. 2007; López Rodríguez A. i sar 2013; Apić, 2015*) (Tabela br. 5). Isto tako spermalna plazma nerasta sadrži još i hormone (androgene, estrogene, prostaglandin F_{2α} - PGF_{2α} i oksitocin), antioksidanse, kao i neke druge bioaktivne supstance (*Watson, 1990; Frunžá i sar., 2008*).

Tabela br. 5. Neke fizičko-hemijske osobine sperme nerasta (Frunzã i sar., 2008; preuzeto Apić, 2015)

Osobine	Vrednosti
Voda (%)	90
Ph	6.69 - 7.69 ¹
Boja	plavkasto-bela do žućkasto-bela ²
Organske materije (%)	8
Neorganske materije (%)	2
Ukupno suve materije (%)	10
Fruktoza (mg%/ml)	40
Ukupni proteini (%)	1.84 - 4.5
Sorbitol (mg%/ml)	8 -16
Inositol (mg%/ml)	600 – 725
Limunska kiselina (mg%/ml)	110 – 260
Lipoproteini (mg%/ml)	404
Glicerilfosforilholin, GPC (mg%/ml)	110 – 240
Na (mg%/ml)	280 – 840
Ca (mg%/ml)	3 – 9
P (mg%/ml)	69 – 300
Mg (mg%/ml)	5 – 14
Hloridi (mg%/ml)	220 – 450

¹ Prema Frunzã i sar., 2008. pH preko 8 ukazuje na neko bolesno stanje.

² Zavisno od gustine ejakulata; Crvenkasto-smeđa boja ukazuje na prisustvo razorenih eritrocita ili infekcije prostate; Crvenkasto-rozikasta boja ukazuje na prisustvo krvi, kao posledice lezija u genitalnom traktu; Zelenkasto-plavičasta boja ukazuje na oligospermiju.

3.10. FUNKCIJA (ULOGA) PROTEINA U SPERMALNOJ PLAZMI

U poslednje vreme raste interes za detaljnim izučavanjem sastava i funkcije spermalne plazme nerasta, jer je ustanovljeno da ona sadrži veći broj bioaktivnih supstanci, među kojima se ističu specifični proteini (Apić, 2015). Specifični proteini imaju značajan uticaj na fertilitet sperme nerasta *in vitro* i *in vivo*, a isto tako i na neke važne funkcije reproduktivnog sistema, koje utiču na fertilitet ženke (O'Leary et al. 2002). Od skoro, postoji sve više navoda da proteini spermalne plazme mogu biti u korelaciji sa fertilitetom nerastova i mogu služiti kao još jedan od parametara ocene kvaliteta semena. Takođe, dokazano je da nerastovi sa višim sadržajem proteina u spermalnoj plazmi imaju znatno bolji fertilizacioni potencijal u odnosu na nerastove sa niskim sadržajem proteina spermalne plazme (Apić i sar., 2016). Isti autori tvrde da je

progresivna pokretljivost i procenat dobrih uzoraka (uzorci sa $\geq 65\%$ progresivne pokretljivosti) nakon čuvanja posle 72h u razređenju 1:4, bila znatno viša (82% i 41%) kod nerastova sa znatno višim sadržajem proteina spermalne plazme (4%), u poređenju sa istim parametrima (76% i 12%) kod nerastova sa nižim sadržajem proteina u spermalnoj plazmi (2%). Isto tako, autori navode da je ukupan broj spermatozoida sa oštećenim akrozomom značajno niži (29%) u ejakulatima sa višim sadržajem proteina, poredeći ih sa ejakulatima sa nižim sadržajem proteina (45%). Redukcija koncentracije proteina spermalne plazme u razređenom semenu nerastova vodi ka postepenom smanjenju progresivne pokretljivosti, vremenu preživljavanja, akrozomalnog integriteta i mitohondrijalne aktivnosti (*Maxwell i Johnson, 1999; Ashrafzadeh i sar., 2013; González-Cadavid i sar., 2014*).

Istraživanja koja su radili različni autori pokazuju da je sadržaj proteina prilično konstantan u svakom ejakulatu jednog istog nerasta (4 do 4,5% kod nerastova sa visokim sadržajem proteina i 2,3 do 2,6% kod nerastova sa niskim sadržajem proteina u spermalnoj plazmi). Takođe je utvrđeno da nivo proteina u spermalnoj plazmi nije u visokoj korelaciji sa rasom ili starošću nerasta (*Gerfen i sar., 1994; Maxwell i Johnson, 1999; Apić i sar., 2016; Stančić i sar., 2015*). Sadržaj proteina u spermalnoj plazmi je prilično konstantan kod jednog istog nerasta, međutim dokazane su velike varijacije između nerastova (*Flowers, 2001; Novak i sar., 2010*). Rezultati koje su dobili *Apić i sar., (2016)* takođe, dokazuju da godišnja sezona nema značajnog uticaja na sadržaj proteina spermalne plazme. Podaci do kojih je došao *Zhu (2000)* predočavaju da bi merenje proteina spermalne plazme moglo biti od velikog značaja za evaluaciju kvaliteta nerastovskog semena. Nerastovi sa višim sadržajem proteina u spermalnoj plazmi pokazuju znatno veći indeks prašenja (86,7%) kao i veći broj živo rođene prasadi po leglu (11,2) u poređenju sa nerastovima čiji je sadržaj proteina u spermalnoj plazmi nizak (indeks prašenja = 78,4; živo rođena prasad/leglo = 10,4) (*Flowers 2001*).

Na osnovu istraživanja, koji su radili neki autori, može se zaključiti da sadržaj proteina u spermalnoj plazmi može imati velikog uticaja pri detekciji ejakulata sa smanjenim fertilizacionim potencijalom i tako pomoći pri selekciji visoko fertilnih nerastova, radi njihove upotrebe za veštačko osemenjavanje (*Apić i sar., 2016*).

Spermalna plazma sadrži nekoliko biomarkera, kao što su peptidi i proteini, koji mogu biti povezani sa fertilizacionim kapacitetom sperme nerasta (*Rodriguez-Martinez i sar., 2011; Dyck i sar., 2011; López Rodríguez, 2012*). U spermalnoj plazmi nerasta, nalaze se različiti

proteini kao što su: Spermadhesin AQN-(AQN-1, AQN-2, AQN-3) i AWN (AWN-1, AWN-2), (PSP-I) i (PSP-II); Epididimalen- specifičen lipokalin(Epididymal-specific lipocalin-5 (LCN 5); Glutation peroksidaza (Glutathione peroxidase - GPX5); Lipokalin molekulske mase 17 KD (Lipocalin EP17 - epididymal protein of 17 kilodaltons); Laktadherin (Lactadherin - SP47 / SED1); Osteopontin (OPN); Laktotransferin (Lactotransferrin - LTF); Laktoferrin (LF); Fibronectin (FN1) i td. Detekcija sadržaja proteina u spermalnoj plazmi je značajan indikator fertiliteta spermatozoida nerasta (*Mogielnicka-Brzozowska i Kordan, 2011*). *Flowers (1998)* je ustanovio visoku pozitivnu korelaciju relativne koncentracije proteina u spermalnoj plazmi, sa fertilitetom sperme nerasta *in vitro*, te da ovo može biti značajan faktor rangiranja nerastova prema stepenu njihovog fertiliteta prilikom osemenjavanja krmača, te je u kasnijim istraživanjima istog autora, ova pretpostavka je i potvrđena. Naime, vrednost prašenja i prosečan broj živo rođene prasadi u leglu, bili su značajno veći kod krmača osemenjenih spermom koja sadrži veću koncentraciju specifičnih proteina (*Flowers, 2001*).

Semena plazma sisara sadrži, između ostalog, proteine nazvane spermadhezini, koji su glavni proteini u spermalnoj plazmi nerasta. Čini se da su ovi proteini uključeni u kapacitaciju i interakciju spermatozoida (*Teixeira i sar., 2006*).

Spermadhezini su nova porodica sekretornih proteina izraženih u genitalnom traktu nerastova, pastuva i bikova. Oni su glavni proizvodi seminalne plazme i utvrđeno je da su periferno povezani sa površinom spermatozoida. Struktura i funkcija spermadhezina detaljno je ispitan kod nerasta i ima najveću raznovrsnost: AWN, AQN-1, AQN-2, PSP-I i PSP-II i njegove glikozilovane izoforme, svaki od ovih članova ima različitu biološku aktivnost (*Centurion i sar., 2003*). To su multifunkcionalni proteini koji pokazuju niz sposobnosti vezivanja, što ukazuje na to da mogu biti uključeni u različite korake oplodnje. Za vreme prolaska spermatozoida kroz epididimis ovi proteini (AQN -3 i AWN) čvrsto se vezuju na površinu spermatozoida. Pri ejakulaciji spermadhezini formiraju zaštitni sloj oko osetljivog akrozomnog područja glave spermatozoida, čime se eventualno sprečava preuranjena akrozomska reakcija. Tokom kapacitacije *in vitro*, većina ovih agregiranih proteina sperme se gube, sa izuzetkom spermadezina vezanih za fosfolipid. AWN i AQN-3 sada mogu poslužiti kao primarni receptor za oocite zona pellucida, čime doprinose inicijalnom vezivanju i prepoznavanju između spermatozoida i jajne ćelije. (*Töpfer-Petersen, 1998; Calvete i sar., 1996*).

Centurion i sar. (2003), su radili istraživanja koja su pokazala da specifični proteini spermalne plazme (iz grupe spermadhezina, koji predstavljaju preko 90% ukupnih proteina spermalne plazme), povećavaju stepen preživljavanja, pokretljivost i aktivnost mitohondrija spermatozoida u uzorcima ekstremno razređene sperme, čuvanih 5h na fiziološkoj temperaturi. Autori zaključuju da bi dodavanje spermalne plazme bio dobar biotehnoški metod čuvanja spermatozoida u ekstremno razređenoj spermi. *Garcia i sar. (2006)*, su dobili slične rezultate oni su pokazali da dodavanje spermadhezina semene plazme, značajno poboljšava funkcionalne parametre spermatozoida u visoko razređenim uzorcima sperme nerasta.

Većina autora su utvrdili da proteini spermalne plazme nerasta utiču na stepen progresivne pokretljivosti spermatozoida, ako se spermatozoidi nađu u sredini sa značajno redukovanom koncentracijom spermalne plazme, oni redukuju progresivnu pokretljivost, sposobnost preživljavanja, fertilizacioni kapacitet, aktivnost mitohondrija, stabilnost ćelijske membrane ili, čak, uginjavaju, na primer, zbog prevelikog razređenja nativnog ejakulata (*Stržežek i sar. 2005; Maxwell i sar. 2007; Caballero i sar., 2008; Stančić i sar., 2012*). Prekomerno razređenje ejakulata, značajno smanjenje koncentraciju spermalne plazme u VO dozama, čime se smanjuje i njihov fertilizacioni potencijal (*Rozeboom, 2000; Caballero i sar., 2004; Stančić i sar., 2012*). Ovo ima za posledicu nižu vrednost fertiliteta veštačke oplodnje, u odnosu na prirodno osemenjene krmače (*Tummaruk i sar., 2000*).

Istraživanja koja su radili *Caballero i sar. (2004)* pokazuju da dodavanje spermalne plazme u jako razređenu spermu nerasta, povećava progresivnu pokretljivost i preživljavanje spermatozoida *in vivo* i *in vitro*, ovo ukazuje da semena plazma ima značajan uticaj na stepen progresivne pokretljivosti i preživljavanje spermatozoida (*Waberski i sar., 1994; Stančić, 2002; Kommisrud i sar., 2002; Wolf i Smital, 2009b*), što ukazuje da proteini spermalne plazme igraju ključnu aktivnu ulogu u ovim procesima (*Garcia i sar., 2009*). Dodavanje spermalne plazme sa visokom koncentracijom proteina spermatozoidima nerasta čija spermalna plazma sadrži nisku koncentraciju proteina, značajno povećava stepen (%) progresivne pokretljivosti i obrnuto, ako se, u spermatozoide, koji potiču iz ejakulata sa visokim sadržajem proteina, doda spermalna plazma sa niskim sadržajem proteina, dolazi do smanjenog potencijala održavanja zadovoljavajućeg stepena progresivne pokretljivosti ($\geq 65\%$) ovih spermatozoida (*Stančić i sar., 2012, Apić, 2015*).

Istraživanja koja se rade u ovoj oblasti, u zadnje vreme, sve više posvećuju pažnju na mogućnosti povećanja fertiliteta spermatozoida čuvanih dubokim zamrzavanjem. Kod duboko zamrznutih, pa otopljenih inseminacionih doza, znatno je niži stepen (%) preživljavanja spermatozoida posle otapanja i isto tako smanjeni period preživljavanja spermatozoida u ženskom reproduktivnom traktu, zbog subletalnih oštećenja spermatozoida, nastalih tokom čuvanja u duboko zamrznutom stanju. Zbog toga kod krmača osemenjenih duboko zamrznutim, pa otopljenim inseminacionim dozama postoji značajno niži fertilitet (*Johnson i sar., 2000; Roca i sar., 2003*). U istraživanju koje su radili *Okazaki i sar. (2012)* pokazalo se da dodavanje spermalne plazme u medijume za otapanje duboko zamrznute sperme nerasta, predstavlja ključni faktor postizanja većeg fertiliteta krmača osemenjenih dozama zamrznute, pa otopljene sperme nerasata. Tako su *Cremades i sar. (2004)* pokazali da dodavanje spermalne plazme u medium za duboko zamrzavanje, povećava stepen preživljavanja spermatozoida posle otapanja inseminacionih doza. Progresivna pokretljivost, broj spermatozoida sa nepovređenim integritetom ćelijske i akrozomalne membrane, bili su signifikantno veći u uzorcima sa dodatom spermalnom plazmom. Rezultati do kojih su došli ovi autori, pokazuju da postoji razlika u ovom efektu spermalne plazme, između pojedinih nerastova. Naime, sperma nekih nerastova ima visok efekt, dok spermalna plazma nekih drugih nerastova ima nizak ili uopšte ne ispoljava ovaj stimulatívni efekt. Autori pretpostavljaju da je ovo posledica različitog odnosa sadržaja pojedinih frakcija proteina u spermalnoj plazmi pojedinih nerastova.

Specifični proteini koji se nalaze u spermalnoj plazmi, su multifunkcionalni proteini koji pokazuju niz sposobnosti vezivanja, što ukazuje na to da mogu biti uključeni u različite korake oplodnje, oni su povezani sa molekularnim mehanizmima transporta spermatozoida kroz uterus krmače (*Strzežek i sar., 2005*). Tokom ejakulacije, za vreme prolaska spermatozoida kroz epididimis ovi proteini adheziraju na ćelijsku membranu spermatozoida, gde se zadržavaju i tokom prolaska spermatozoida kroz uterus krmače, sve do kaudalnog istmusa. Tamo se ovi proteini skidaju sa ćelijske membrane (tzv. denudacija spermatozoida), kako bi započela reakcija akrozoma, u procesu kapacitacije spermatozoida, neposredno pre fertilizacije oocita u ampuli jajovoda (*Muiño-Blanco i sar., 2008*).

Proteini spermalne plazme imaju i imunomodulatorno svojstvo, oni inhibiraju imuni odgovor uterusa (stimulacijom pro-inflamatornih citokina) na antigene spermatozoida (tzv.

postinseminaciona inflamacija uterusa, izazvana infiltracijom polimorfonuklearnih granulocita u lumen uterusa) (*Madej i sar., 2013*).

Istraživanja koji su radili *Robertson i Sharkey, (2001)* ustanovili su da uspostavljanje interakcije preimplantacionih embriona i uterusa, kao i indukcija faktora rasta embriona, takođe se povezuje sa delovanjem specifičnih proteina spermalne plazme. Tretirane krmače sa dodavanjem spermalne plazme u uterus, stimuliralo je ekspresiju citokina (faktora koji stimulišu kolonizaciju uterusa makrofagnim granulocitima), što se povezuje sa povećanjem broja živih embriona (*O'Leary i sar., 2004*).

Istraživanja koji su radili *O'Leary i sar. (2002)* pokazuju da proteini spermalne plazme imaju uticaj na koordinaciju ovulacije i prispeća spermatozoida u utero-tubularnom spoju, odnosno u kaudalnom istmusu. Ova koordinacija obezbeđuje da se oociti i kapacitirani spermatozoidi nađu u ampuli jajovoda, u optimalno vreme za oplodnju (*Gomeida i sar., 1998*), tj. unutar 6 do 8 sati posle ovulacije (*Hunter, 1986, Radović i sar., 2006*).

Tačan mehanizam ubrzanja ovulacije nije potpuno jasan, ali se smatra da proteini spermalne plazme stimulišu sekreciju prostaglandina F2 α (PGF2 α) u endometriumu, koji je sposoban da prelaskom iz uteroovarijalne vene u uteroovarijalnu arteriju, dođe do ovariuma (*Claus, 1990*). Istraživanja koja su izveli *Waberski i sar. (2000)*, pokazuju da spermalna plazma ubrzava proces ovulacije. Kasnije su *Waberski i sar. (2006)* ustanovili da proteini spermalne plazme indukuju povećanje koncentracije citokina u limfi uterusa, koji prelaze iz uterusne vene u ovarijalnu arteriju. Na taj način dospevaju do jajnika, gde ubrzavaju dozrevanje predovulatornih folikula.

4. MATERIJAL I METOD RADA

Eksperimentalni deo ovog istraživanja izveden je u dva dela.

U prvom delu je izvršen prikaz reproduktivnih performansi nerastova koji se koriste za veštačko osemenjavanje (VO), analizom parametara ejakulata i reproduktivne performanse krmača na devet velikih vojvođanskih farmi svinja u AP Vojvodini.

U drugom delu, su izvršena sledeća eksperimentalna istraživanja:

1. Kvalitet nativne sperme, u laboratorijskim uslovima, po individualnim farmama,
2. Kvalitet nativne sperme, u laboratorijskim uslovima po rasama,
3. Kvalitet nativne sperme, u laboratorijskim uslovima između četiri starosne kategorije (od 1 godine do 4 godine starosti nerastova),
4. Povezanost između procenta ukupnih proteina u spermalnoj plazmi i parametara ejakulata: volumen ejakulata (ml) nerastova, progresivna pokretljivost (%) spermatozoida, koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml ejakulata), ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$),
5. Uticaj i povezanost između procenta proteina različite molekulske mase i parametara: progresivne pokretljivosti, procenat povadanja i ukupan broj prasadi po leglu,
6. Povezanost – korelacija različite procentualne zastupljenosti proteina različite molekulske mase na sledeće parametre: progresivna pokretljivost, procenat povadanja (%), ukupno oprашenih majki i ukupan broj prasada po leglu.

4.1. REPRODUKTIVNE PERFORMANSE NERASTOVA I KRMAČA U PROIZVODNIM ZAPATIMA

4.1.1 Reproductive performanse nerastova

Podaci o reproduktivnoj eksploataciji i produktivnosti nerastova, prikupljeni su iz baze podataka reproduktivne evidencije devet ispitivanih farmi. Efikasnost reproduktivne eksploatacije nerastova, prikazana je na osnovu podataka prikupljenih iz reproduktivne evidencije devet klasičnih farmi intenzivne proizvodnje svinja.

Sistem odgajanja nerasta zasniva se na individualnom pristupu. Nerastovi bili su smešteni u individualnim boksevima.

Radi zaštite proizvodnih podataka, ove farme će, u daljem tekstu, biti označene kao: farma I, farma II i farma III, farma IV, farma V, farma VI, farma VII, farma VIII, farma IX. Na

svakoj farmi su uzeti podaci od različitog broja nerastova, koji su bili korišćeni tokom cele godine (2015. ili 2016. godine), odnosno od kojih je uzimana sperma za veštačko osemenjavanje (VO), prosečno jednom nedeljno u toku svakog meseca u godini. Na ovih devet farmi, prikazani su parametri ocene reproduktivne performanse nerastova: broj nerastova, broj ispitanih ejakulata, volumen (ml), progresivna pokretljivost (%), koncentracija spermatozoida ($\times 10^6/\text{ml}$), ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$) i procenat ukupnih proteina.

4.1.2. Reproductivne performanse krmača u proizvodnim zaptima

Podaci o reproduktivnim performansama krmača su prikupljeni sa ukupno devet farmi. Ukupan broj kontrolisanih krmača je 9696. Posebno su prikazani podaci o broju osemenjenih krmača, broju ukupno opraašenih, broju povaađanja, broju ukupno opraašenih prasadi i ukupnom broju prasadi po leglu.

4.2. EKSPERIMENTALNA ISTRAŽIVANJA

Istraživanja su obuhvatila šest odvojenih eksperimenata.

U prvom eksperimentu ispitivani su parametri ejakulata nerastova po farmama: volumen ejakulata (ml) nerastova, progresivna pokretljivost (%) spermatozoida, koncentracija spermatozoida ($\times 10^6/\text{ml}$ ejakulata), ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$) i procenat ukupnih proteina u spermalnoj plazmi. Isto tako napravljena je i analiza parametara za svih devet farmi analiziranih kao kategorijske varijabile.

U drugom eksperimentu, su ispitivani parametri ejakulata nerastova po rasama (uticaj rase nerastova na parametre ejakulata), pri čemu su analizirani sledeći parametri: volumen ejakulata (ml) nerastova, progresivna pokretljivost (%) spermatozoida, koncentracija spermatozoida ($\times 10^6/\text{ml}$ ejakulata), ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$) i procenat ukupnih proteina u spermalnoj plazmi. Isto tako napravljena je i analiza parametara analiziranih kao kategorijske varijabile za sve tri rasa nerasta.

U trećem eksperimentu, ispitivani su parametri ejakulata nerastova (volumen ejakulata (ml) nerastova, progresivna pokretljivost (%) spermatozoida, koncentracija spermatozoida ($\times 10^6/\text{ml}$ ejakulata), ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$) i procenat ukupnih proteina u spermalnoj plazmi) između četiri starosne kategorije, od 1 godine do 4 godine starosti.

U četvrtom eksperimentu ispitivana je povezanost - korelacija između procenta ukupnih proteina u spermalnoj plazmi i parametara ejakulata: volumen ejakulata (ml) nerastova,

progresivna pokretljivost (%) spermatozoida, koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml ejakulata), ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$) i utvrđivanje povezanosti - korelacije sadržaja ukupnih proteina u spermalnoj plazmi na povadañje, na ukupan broj oprašeni plotkinja i na ukupan broj prasadi po leglu.

U petom eksperimentu ispitivan je uticaj i povezanost između procenta ukupnih proteina različite molekulske mase i parametara ejakulata: % progresivne pokretljivosti, procenat povadañja (%) i ukupan broj prasadi po leglu,

Šesti eksperiment obuhvata ispitivanje povezanosti – korelacije različite procentualne zastupljenosti proteina različite molekulske mase sa sledećim parametarima ejakulata: progresivna pokretljivost (%), procenat povadañja (%), ukupan broj oprašeni plotkinja i ukupan broj prasadi po leglu.

Eksperimentalna istraživanja su izvedena u:

- a) Laboratoriju za reprodukciju domaćih životinja, Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu (*Departman za stočarstvo i Departman za veterinarsku medicinu*),
- b) Laboratoriji za kontrolu kvaliteta hrane za životinje i animalnih proizvoda, Departman za stočarstvo, Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu

4.2.1. Prvi eksperiment

Dobijanje uzoraka ejakulata za analizu.

Ejakulati su uzeti od ukupno 50 nerastova sa ukupno 9 farmi. Ejakulati su uzimani uobičajenom metodom manuelne fiksacije penisa i skokom nerasta na fantom. Uziman je ejakulat bez gel-frakcije. Oprema koja je korištena prilikom uzimanja sperme (rukavice, polietilenski spermosabirač, filter-gaza), bila je sterilna i za jednokratnu upotrebu. Volumen dobijenog ejakulata je izmeren na farmi, a uzorak ejakulata, oko 60 ml do 70 ml je stavljen u sterilnu polietilensku flašicu za spermu. Ovako pripremljen uzorak ili uzorci, stavljen je u termo-boks na temperaturu od $+17^{\circ}\text{C}$ i transportovan od farme do određene laboratorije na Poljoprivrednom fakultetu u Novom Sadu.

Uzorci ejakulata uzimani su u flašice na koje su obeležani osnovni podaci identifikacije (broj tetovir nerasta) i uz propratnu dokumentaciju (ime farme, datum uzimanja uzorka, volumen

uzorka, starost i rasa nerasta) su dostavljeni do laboratoriju u periodu od 2 do 4 sata nakon uzurkovanja.

U laboratoriji, uzorci ejakulata su stavljeni u vodeno kupatilo na +37 °C u periodu od 60 minuta uz postepeno zagrevanje. Na ovoj temperaturi, uzorci su držani tokom kontrole kvaliteta. Kontrola kvaliteta vršena je makroskopska ocena ejakulata i tako i mikroskopska analiza koja uključuje određivanje osnovnih parametara fertilizacionog potencijala svakog uzorka.

Makroskopska ocena je obuhvatila volumena ejakulata (koji je određen na farmi), a pored toga i izgled, boju, gustinu, prisustvo stranih materija (nečistoća, krv i gnoj).

Mikroskopska ocena nativne sperme je obuhvatila: određivanje progresivne pokretljivosti (%), koncentracije spermatozoida ($\times 10^6$ u jednom ml ejakulata) i ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$).

Vizuelnom mikroskopskom metodom (faznokontrastni mikroskop, uveličanje 100 \times) uz konstantno održavanje temperature (37°C) na predmetnoj pločici i ljustici, određivana je progresivna pokretljivost svakog uzorka. Da bi se dobilo šest vrednosti ocene progresivne pokretljivosti za svaki uzorak ejakulata, ocenu ovog parametra vršila su dva iskusna istraživača, istovremeno ali nezavisno, u 3 različita vidna polja mikroskopa i u dve različite kapi sperme (*Komisurd i sar., 2002*). Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ u jednom ml ejakulata) i ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$), određeni su fotometrijskom metodom, primenom digitalnog fotometra SDM-5 (Minitüb, Tifenbach, Germany). Dobijeni rezultati su uredno evidentirani za svaki uzorak nativne sperme.

Dobarim ejakulatom smatra se onaj ejakulat sa volumenom ≥ 120 ml; koncentracijom spermatozoida $\geq 200 \times 10^6$ /ml ejakulata i progresivnom pokretljivošću $\geq 65\%$ (*Stančić, 2005; López Rodríguez, 2012*).

Određivanje sadržaja proteina u uzorcima spermalne plazme.

Dobijanje uzoraka nativne sperme kao i postupak sa uzorcima opisani su u prvom eksperimentu. U cilju dobijanja spermalne plazme svaki uzorak (20ml svežeg ejakulata) je centrifugiran na 1000 o/min na temperaturi 4°C, tokom 15 minuta, kako bi se razdvojile spermatozoidi i spermalna plazma. Nakon centrifugiranja supernatant (semena plazma) je odliven u epruvetu i ponovo centrifugiran na 3000 o/min. na 4°C, kako bi se spermalna plazma prečisti od eventualno zaostalih spermatozoida ili drugih organskih partikula. Tako dobijeni uzorci spermalne plazme su čuvani maksimalno 24h u frižideru na 4°C, do momenta početka hemijske analize.

Analiza sadržaja proteina u spermalnoj plazmi rađena je metodom AOAC (Official Method 2001.11) u laboratoriji za kontrolu kvaliteta hrane za životinje i animalnih proizvoda, Departman za stočarstvo, Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu.

Parametri ejakulata nerastova po farmama

Prvi eksperiment i komparativna analiza dobijenih vrednosti parametara za ukupno 50 ejakulata, vršen je kod svakog nerasta po jedan (prosečan volumen, prosečan broj spermatozoida, koncentracija spermatozoida i prosečna progresivna pokretljivost) između svih devet farmi. Broj ispitanih nerasta, broj ejakulata po nerastu i ukupan broj ejakulata uzetih u svih devet farmi, prikzani su u tabeli 8.

Tabela br. 8. Broj ispitanih ejakulata po farmama

	Farma									Ukupno
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	I+II+III...IX
Ukupno nerastova /ejakulata (n)	8	5	6	11	8	4	4	2	2	50
Ejakulata po nerastu (n)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Analiza parametara za svih devet farmi analiziranih kao kategorijski varijabilne

Analizirano je ukupno 50 ejakulata od 50 nerasta na devet farmi. Analiza **volumena ejakulata** ispitivanih nerasta rađena je u dve kategorije nerasta: nerastovi sa volumenom ejakulata manjim od 119 ml i nerastovi sa volumenom ejakulata većim od 120 ml. Vrednosti **progresivne pokretljivosti spermatozoida** nerasta bile su podeljene u kategoriju sa progresivnom pokretljivošću manjom od 64% i na kategoriju veću od 65%. Analiza **koncentracije spermatozoida** u ejakulatu nerastova na svih devet farmi rađena je u dve grupe: grupa nerasta sa koncentracijom spermatozoida manjom od $199 \times 10^6/\text{ml}$ i većom od $200 \times 10^6/\text{ml}$. Zastupljenost **ukupnih proteina** u ejakulatu nerasta sa svih devet farmi bile je razvrstane tri kategorije: manje od 3%, od 3% – 3.5% i veći od 3,6% proteina. Broj nerestova prema kategoriji parametara ejakulata na svih devet farmi prikazan je u tabeli br 9.

Tabela br. 9. Broj nerestova prema kategoriji parametara ejakulata (volumen, progresivna pokretljivost, koncentracija spermatozoida i proteini %) sa svih devet farmi kao kategoriski varijabilne

Farma	Parametri ejakulata nerastova za svih devet ispitivanih farmi								
	Volumen (ml)		Progresivna pokretljivost (%)		Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6/\text{ml}$)		Sadržaj protein u spermalnoj plazmi (%)		
Ukupno nerastova	n		n		n		n		
	≤ 119	≥ 120	≤ 64	≥ 65	≤ 199	≥ 200	≤ 3	3 – 3.5	≥ 3.6
I	0	8	0	8	0	8	5	3	0
II	0	5	3	2	4	1	2	2	1
III	0	6	0	6	1	5	4	0	2
IV	3	8	2	9	2	8	7	3	1
V	0	8	0	8	0	8	7	0	1
VI	0	4	1	3	1	3	2	0	2
VII	0	4	0	4	1	3	3	0	1
VIII	1	1	2	0	0	2	1	0	1
IX	0	2	0	2	0	2	1	0	1
Ukupno	4	46	8	42	9	40	32	8	10

4.2.2. Drugi eksperiment

Dobijanje uzoraka nativnih ejakulata, postupak sa uzorcima po prispeću u laboratoriju, kao i metode određivanja parametara kvaliteta nativne sperme, urađeni su kako je opisano na početku ovog poglavlja (4.2.1.).

Uticaj rase nerasta na parametre ejakulata

U drugom eksperimentu izvršeno je ispitivanje kvaliteta ukupno 47 ejakulata od 47 nerasta. Za ispitivanje su uzete tri rase nerasta, koje se najčešće koriste u industrijskoj proizvodnji svinja na vojvođanskim farmama: landras, jorkšir i durok. Rasa nerasta, broj ispitivanih nerasta i broj ejakulata po nerastu prikazani su u tabeli 10.

Tabela br 10. Broj ispitivanih ejakulata po rasama

Parametri	Rasa			Ukupno
	Landras	Jokšir	Durok	
Broj nerastova / ejakulata (n)	16	22	9	47

Parametre za sve tri rase analizirani kao kategoriski varijabilne. Analizirano je ukupno 47 ejakulata od 47 nerasta sa devet farmi. Analizirani su volumen ejakulata nerastova (manji od 119 ml i veći od 120 ml), % progresivna pokretljivost (manja od 64% i veća od 65%), koncentracija spermatozoida ($\times 10^6/\text{ml}$) (manja od 199 i veća od 200) i sadržaj ukupnih proteina u spermalnoj plazmi (manji od 3%, od 3% do 3,5% i veći od 3,6%). Broj nerastova prema kategoriji ispitivanih parametara ejakulata (volumen ejakulata, progresivna pokretljivost, koncentracija

spermatozoida i procenat ukupnih proteina) kod pojedinih rasa nerastova (landras, jokšir i durok) prikazan je u tabeli br. 11.

Tabela br 11. Parametri kvaliteta nativnih ejakulata nerastova po rasama

Parametri		Rasa			Ukupno
		Landras	Jokšir	Durok	
		(n)	(n)	(n)	
Volumen (ml)	<119	0	2	3	5
	>120	16	20	6	42
Progresivna pokretljivost (%)	< 64	5	7	1	13
	> 65	11	15	8	34
Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml ejakulata)	< 199	5	3	1	9
	> 200	11	18	8	37
Proteini (%)	< 3	13	11	5	29
	3 – 3.5	0	7	1	8
	> 3.6	3	4	3	10

4.2.3. Treći eksperiment

Dobijanje uzoraka nativnih ejakulata, postupak sa uzorcima po prispeću u laboratoriju, kao i metode određivanja parametara kvaliteta nativne sperme, urađeni su kako je opisano na početku ovog poglavlja (4.2.1.).

Uticaj starosti nerasta na parametre ejakulata. Ispitano je ukupno 50 ejakulata od 50 nerasta sa devet farmi pri čemu je analiziran uticaj starosti nerasta na parametre ejakulata (volumen ejakulata (ml), progresivna pokretljivost (%), koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$), ukupan broj spermatozoida ($\times 10^9$) i procent ukupnih proteina). Nerastovi su bili podeljeni po starosti u 4 grupe (Grupa I do 1 godine, Grupa II do 2 godine, Grupa III do 3 godine i Grupa IV nerasta od 4 godine starosti), (Tabela br. 12).

Tabela br. 12. Broj nerastova po različitim starosnim kategorijama

Starost nerasta	I grupa	II grupa	III grupa	IV grupa	Ukupno

n	25	8	13	4	50
---	----	---	----	---	----

4.2.4. Četvrti eksperiment

Dobijanje uzoraka nativnih ejakulata, postupak sa uzorcima po prispeću u laboratoriju, kao i metode određivanja parametara kvaliteta nativne sperme, urađeni su kako je opisano na početku ovog poglavlja (4.2.1.).

Četvrti eksperiment obuhvata utvrđivanje povezanosti - korelacije između procenta ukupnih proteina u spermalnoj plazmi i parametara ejakulata: volumen ejakulata (ml) nerastova, progresivna pokretljivost (%) spermatozoida, koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml ejakulata), ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$) i utvrđivanje povezanosti - korelacije sadržaja ukupnih proteina u spermalnoj plazmi na povadanje, ukupno oprušenih plotkinja i na ukupan broj prasadi po leglu. U cilju analize povezanosti – korelacije, korišćena je podela ejakulata u tri kategorije na osnovu procentualne zastupljenosti ukupnih proteina u ejakulatu (<3%, 3% - 3,5% i > 3,6) (Tabela br 13 i tabela 14).

Tabela br. 13. Kategorizacija ejakulata na osnovi procentualne zastupljenosti ukupnih proteina u ejakulatu i broj nerasta u svakoj kategoriji.

Parametri ejakulata	Proteini (%)	Broj nerastova (n)
volumen ejakulat (ml)	< 3	32
	3 – 3,5	8
	> 3,6	10
progresivna pokretljivost (%)	< 3	32
	3 – 3,5	8
	> 3,6	10
koncentracija ($\times 10^6$)	< 3	31
	3 – 3,5	8
	> 3,6	10
uk. br. spermatozoidi ($\times 10^9$)	< 3	31
	3 – 3,5	8
	> 3,6	10

Tabela br. 14. Kategorizacija parametara reproduktivnih performansi nerastova na osnovu procentualne zastupljenosti ukupnih proteina u ejakulatu i broj nerasta u svakoj kategoriji.

Parametri reproduktivne performanse nerastova	Proteina (%)	Broj nerasta (n)
Broj povadaanja	< 3	32
	3 – 3,5	8
	> 3,6	10
Ukupno opraašenih majki	< 3	32
	3 – 3,5	8
	> 3,6	10
Ukupan broj prasadi po leglu	< 3	31
	3 – 3,5	8
	> 3,6	10

4.2.5. Peti eksperiment

Dobijanje uzoraka nativnih ejakulata, postupak sa uzorcima po prispeću u laboratoriju, kao i metode određivanja parametara kvaliteta nativne sperme, urađeni su kako je opisano na početku ovog poglavlja (4.2.1.).

Određivanje proteina u spermalnoj plazmi

Postupak dobijanje semene plazme i protokol priprema uzorka opisani su kod prvog eksperimenta.

Razdvajanje na čipu izvršeno je korišćenjem uređaja Agilent 2100 bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) u kombinaciji sa Protein 230 Plus Lab Chip kitom i dodatnim Protein 230 software protokol na 2100 expert software. Svi čipove bile su pripremljeni prema protokolu koji je sastavni deo kita Protein 230 LabChip. Pre aplikacije uzorka u čipove, uzorci bili su razređivani dejoniziranom vodom (1:2 v/v uzorak/voda). Nakon homogenizacije vršena je denaturacija uzorka (4μl) pomoćagilent rastvor za denaturacijU (3.5% β- mercaptoethanol) je zagrevan na 100°C tokom 5 minuta. Nakon dilucije sa dejonizovanom vodom, aplikovano je 6 μL svakog uzorka u Protein 230+ LabChip. Za svaki ispitivan uzorak, analiza je izvršena u dva nezavisna ponavljanja.

U petom eksperimentu ispitano je ukupno 50 ejakulata od 50 nerastova sa devet farmi, a u istraživanju su bile uključene tri rase nerastova: jorkšir, landras i durok. U tabeli br. 15, prikazana je procentualna zastupljenost svake kategorije proteina, grupisane po rasama (**jorkšir (n-22), landras (n-16) i durok (n-10) i ostali (n-2)**). Ispitivan je uticaj različite procentualne zastupljenosti proteina, različite molekulske mase i parametri kvaliteta ejakulata, a time i fertilitet nerastova (progresivna pokretljivost, procenat povadjanja (%) i ukupan broj prasadi po leglu). U cilju ispitivanja uticaja različite procentualne zastupljenosti proteina, različite molekulske mase, proteini semene plazme podeljeni su u tri grupe prema molekularnoj masi: proteini molekulske mase od 10-20 kDa, proteini molekulske mase od 21-30 kDa, proteini molekulske mase od 31-40 kDa, proteini molekulske mase od 41-50 kDa i proteini molekulske mase >51 kDa. Analiza se zasniva na procentualnoj zastupljenosti svake kategorije proteina i njihov uticaj na parametre koji su predmet ovog istraživanja.

Tabela br. 15. Zastupljenos protein različitih molekulskih masa po rasama

Molekularna težina proteina podeljena po kDa					
Rasa	Molekularna težina proteina (% od koncentracije ukupnih protein spermalne plazme)				
	10-20 kDa	21-30 kDa	31-40 kDa	41-50 kDa	>51 kDa
Jorkšir	25,12	51,03	18,67	2,29	2,89
Landras	28,26	56,12	9,83	3,27	2,52
Durok	28,10	45,05	18,63	3,55	4,67
Drugo	28,40	48,45	21,15	/	2,00

4.2.6. Šesti eksperiment

Dobijanje uzoraka nativnih ejakulata, postupak sa uzorcima po prispeću u laboratoriju, kao i metode određivanja parametara kvaliteta native sperme, urađeni su kako je opisano na početku ovog poglavlja (4.2.1.).

Određivanje proteina u spermalnoj plazmi urađeni su kako je opisano na početku ovog podpoglavlja (4.2.4.)

Šesti eksperiment uključuje analizu povezanosti – korelaciju između procentualne zastupljenosti proteina različite molekulske mase i progresivne pokretljivosti, broja povadjanja i

ukupanog broja prasadi po leglu. U tom cilju proteini semene plazme podjeljeni su u 5 kategorija, opisano u prethodnom poglavju (4.2.5.). Analiza je rađena na prve tri kategorije (proteini molekulske mase od 10-20 kDa, 21-30 kDa, i proteini molekulske mase od 31-40 kDa). Ostale dve kategorije nisu bile predmet analize zbog niskog procenta zastupljenosti proteina molekulske mase od 41-50 kDa i preko 51 kDa.

4.3. STATISTIČKA ANALIZA

Statistička analiza dobijenih podataka tokom istraživanja obrađena je u statističkom programu SPSS 17,0. Kategorijski parametri su prikazani apsolutnim i relativnim brojevima. Kvantitativne varijable su prikazane u proseku, minimalne vrednosti, maksimalne vrednosti i standardna devijacija. Za poređenje parametara koji su bili analizirani korišćeni su Studentov *t-test*, Analysis of Variance, Kruskal Wallis test, Fisher exact, two tailed test, a za analiziranje korelacija između parametara korišćen Pearsonov (r) koeficijent linearne korelacije. Statistička signifikantnost definisana je na nivo na $p < 0.05$.

5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

U prvom delu su prikazani osnovni parametri reproduktivnih performansi nerastova (**reproduktivne performanse – kvalitet ejakulata za sve nerastove, reproduktivne performanse nerastova po rasama, i procentualna zastupljenost proteina različite molekulske mase u spermalnoj plazmi**) i reproduktivne performanse krmača, na devet većih industrijskih farmi svinja u AP Vojvodini. U drugom delu su prikazani rezultati eksperimenatlnih istraživanja, koja su podeljena u šest odvojenih eksperimenata.

5.1. REPRODUKTIVNA EKSPLOATACIJA

5.1.1. Reproductivne performanse nerastova - Kvalitet ejakulata

Osnovni parametri ejakulata nerastova, koji se koriste za veštačko osemenjavanje (VO), na devet velikih vojvođanskih farmi svinja, prikazani su u tabeli br. 16.

Ispitano je ukupno 50 nerastova, od kojih je uzet po jedan uzorak sperme. Prosečan volumen ejakulata je iznosio 214 ml i kretao se od 50 ml do 390 ml, sa prosečnom progresivnom pokretljivošću 72% koja se kretala od 40% do 90%. Koncentracija spermatozoida prosečno je iznosila $323 \times 10^6/\text{ml}$ i kretala se od $84 \times 10^6/\text{ml}$ do $504 \times 10^6/\text{ml}$, prosečan ukupan broj spermatozoida u ejakulatu bio je 67×10^9 i kretao se od 10×10^9 do 136×10^9 , prosečan broj ukupnih proteina je iznosio 2,81% i kretao se od 1,43% do 5,34%.

Tabela br. 16 Reproduktivne performanse nerastova - Kvalitet ejakulata

Tet. Broj	Rasa	Broj ejakulata	Volume n (ml)	Progresivna pokretljivost (%)	Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml ejakulata)	Ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$)	Ukupni proteini (%)
5743	Landras	1	160	80	400	64	2,48
2307	Jokšir	1	200	75	390	78	3,20
2191	Jokšir	1	170	70	287	49	3,10
715	Durok	1	190	70	305	58	2,58
17559	Durok	1	230	85	315	71	2,94
9197	TOP-X, Tempo	1	240	85	284	68	2,60
2307 OA	Jokšir	1	190	80	375	70	3,10
45279	Jokšir	1	315	75	320	101	1,56
6047	Landras	1	130	70	327	42	1,82
2074	Jokšir	1	130	35	190	24	2,89
5709	Landras	1	180	63	176	31	3,81
46690	Jokšir	1	320	43	84	27	3,21
47242	Jokšir	1	390	65	199	78	3,31
9603	Landras	1	280	90	486	136	3,65
25730	Jokšir	1	280	75	314	87	2,34
138-08	Landras	1	160	65	271	43	2,39
5989	Durok	1	280	80	256	71	3,88
5124	Landras	1	380	70	179	68	2,63
5322	Jokšir	1	150	80	579	86	1,79
926	Jokšir	1	200	90	235	47	2,69
4494	Durok	1	150	85	248	37	3,01
3943	Jokšir	1	100	65	220	22	3,58
8330	Landras	1	130	80	333	43	2,80
6048	Landras	1	200	75	196	39	2,27
936	Jorksir	1	250	90	309	78	3,10
1017	Jorksir	1	300	65	238	71	2,42
1314	Durok	1	70	75	140	10	2,98
35571	Jorksir	1	180	50	318	57	1,43
3956	Jorksir	1	300	90	293	88	4,20
4271	Jorksir	1	50	40	0	0	2,38
98864	Landras	1	287	70	323	92	1,94

11121	Jorkšir	1	234	90	287	67	2,44
98956	Landras	1	272	75	340	92	1,66
11101	Jorkšir	1	171	80	414	70	2,43
11098	Jorkšir	1	167	80	459	76	3,72
98858	Landras	1	248	70	504	124	1,90
87683	Jorkšir	1	272	90	415	97	2,84
98961	Landras	1	145	80	374	54	1,79
7314	Durok	1	320	70	289	92	2,78
6692	Jorksir	1	210	75	279	59	4,20
7312	Durok	1	200	80	439	88	3,90
8563	Landras	1	420	30	188	79	2,47
68PIE	Piettren	1	260	75	226	59	2,88
89 NL	Durok	1	120	95	353	42	2,70
187 NL	Landras	1	157	65	186	29	1,65
67 LW	Landras	1	163	90	443	72	5,34
3168	Durok	1	90	10	965	87	4,20
5508	Landras	1	180	30	636	115	2,10
577	Jorksir	1	300	80	388	116	3,89
605	Durok	1	200	80	371	74	1,73
Prosek	-	-	214	72	323	67	2,81

5.1.1.1. Reproktivne performanse nerastova po rasama - Kvalitet ejakulata nerastova po rasama

Vrednosti osnovnih parametara fertilizacionog potencijala ejakulata ispitivanih rasa nerastova, prikazane su u tri tabele podeljeni po rasama, tabele broj 17, 18 i 19.

U tabeli 17, prikazani su parametri kvaliteta ejakulata kod nerastova rase landras. Ispitatano je ukupno 16 nerastova od kojih je uzet po jedan ejakulat. Prosečan volumen ejakulata je iznosio 218 ml i kretao se od 130 ml do 420 ml. Koncentracija spermatozoida u proseku je iznosila 335×10^6 /ml, i kretala se od 176 do 636. Ukupan broj spermatozoida u ejakulatu u proseku je iznosio 70×10^9 i kretao se od 29×10^9 do 136×10^9 , sa prosečnom progresivnom pokretljivošću 69% koja se kretala od 30% do 90%, prosečan broj ukupnih proteina u spermalnoj plazmi iznosio je 2,54 % a kretao se od 1,65% do 5,34%.

Tabela br. 17. Parametri kvaliteta ejakulata kod nerastova rase landras

Tet. broj	Rasa	Broj ejakulata	Volumen (ml)	Progresivna pokretljivost (%)	Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml ejakulata)	Ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$)	Ukupni proteini (%)
5743	Landras	1	160	80	400	64	2,48
6047	Landras	1	130	70	327	42	1,82
5709	Landras	1	180	63	176	31	3,81
9603	Landras	1	280	90	486	136	3,65
138-08	Landras	1	160	65	271	43	2,39
5124	Landras	1	380	70	179	68	2,63
8330	Landras	1	130	80	333	43	2,80
6048	Landras	1	200	75	196	39	2,27
98864	Landras	1	287	70	323	92	1,94
98956	Landras	1	272	75	340	92	1,66
98858	Landras	1	248	70	504	124	1,90
98961	Landras	1	145	80	374	54	1,79
8563	Landras	1	420	30	188	79	2,47
187 NL	Landras	1	157	65	186	29	1,65
67 LW	Landras	1	163	90	443	72	5,34
5508	Landras	1	180	30	636	115	2,10
Prosek	-	-	218	69	335	70	2,54

U tabeli 18, prikazani su parametri kvaliteta ejakulata kod nerastova rase jokšir. Ispitano je ukupno 22 nerasta od kojih je uzet po jedan ejakulat. Prosečan volumen ejakulata je iznosio 222 ml i kretao se od 50 ml do 390 ml. Koncentracija spermatozoida u proseku je iznosila 300×10^6 /ml, i kretala se od 84 do 579. Ukupan broj spermatozoida u ejakulatu u proseku je iznosio 66×10^9 i kretao se od 22×10^9 do 116×10^9 , sa prosečnom progresivnom pokretljivošću od 72% koja se kretala od 35% do 90%, prosečan broj ukupnih proteina u spermalnoj plazmi iznosio je 2,71%, a kretao se od 1,43% do 4,20%.

Tabela br. 18. Parametri kvaliteta ejakulata kod nerastova rase jokšir

Tet. Broj	Rasa	Broj ejakulata	Volume n (ml)	Progresivna pokretljivost (%)	Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml ejakulata)	Ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$)	Ukupni proteini (%)
2307	Jokšir	1	200	75	390	78	3,20
2191	Jokšir	1	170	70	287	49	3,10
2307 OA	Jokšir	1	190	80	375	70	3,10
45279	Jokšir	1	315	75	320	101	1,56
2074	Jokšir	1	130	35	190	24	2,89
46690	Jokšir	1	320	43	84	27	3,21
47242	Jokšir	1	390	65	199	78	3,31
25730	Jokšir	1	280	75	314	87	2,34
5322	Jokšir	1	150	80	579	86	1,79
926	Jokšir	1	200	90	235	47	2,69
3943	Jokšir	1	100	65	220	22	3,58
936	Jokšir	1	250	90	309	78	3,10
1017	Jokšir	1	300	65	238	71	2,42
35571	Jokšir	1	180	50	318	57	1,43
3956	Jokšir	1	300	90	293	88	4,20
4271	Jokšir	1	50	40	0	0	2,38
11121	Jorkšir	1	234	90	287	67	2,44
11101	Jorkšir	1	171	80	414	70	2,43
11098	Jorkšir	1	167	80	459	76	3,72
87683	Jorkšir	1	272	90	415	97	2,84
6692	Jokšir	1	210	75	279	59	4,20
577	Jokšir	1	300	80	388	116	3,89
Prosek	-	-	222	72	300	66	2,71

U tabeli 19, prikazani su parametri kvaliteta ejakulata kod nerastova rase durok. Ispitano je ukupno 9 nerastova od kojih je uzet po jedan ejakulat. Prosečan volumen ejakulata je iznosio 184 ml i kretao se od 70 ml do 320 ml. Koncentracija spermatozoida u proseku je iznosila $375 \times 10^6/\text{ml}$, i kretala se od 140 do 965. Ukupan broj spermatozoida u ejakulatu u proseku je iznosio 62×10^9 i kretao se od $9,8 \times 10^9$ do 92×10^9 , sa prosečnom progresivnom pokretljivošću 73 % koja se kretala od 10% do 95%, prosečan broj ukupnih proteina u spermalnoj plazmi iznosio je 3,12% a kretao se od 1,73% do 4,20%.

Tabela br. 19. Parametri kvaliteta ejakulata kod nerastova rase durok

Tet. Broj	Rasa	Broj ejakulata	Volumen (ml)	Progresivna pokretljivost (%)	Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6/\text{ml}$ ejakulata)	Ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$)	Proteini, %
17559	Durok	1	230	85	315	71	2,94
5989	Durok	1	280	80	256	71	3,88
4494	Durok	1	150	85	248	37,2	3,01
1314	Durok	1	70	75	140	9,8	2,98
7314	Durok	1	320	70	289	92	2,78
7312	Durok	1	200	80	439	88	3,90
89 NL	Durok	1	120	95	353	42	2,70
3168	Durok	1	90	10	965	87	4,20
605	Durok	1	200	80	371	74	1,73
Prosek			184	73	375	62	3,12

5.1.2. Reproductivne performanse krmača

Osnovni parametri reproduktivnih performansi krmača uzeti su sa devet farmi.

Na farmi I, iz tabele broj 20 se vidi da je ova kontrola produktivnosti obuhvatila ukupno 1874 krmača i 8 nerastova. Evidentirani parametri produktivnosti su broj ukupan broj osemenjenih krmača, broj povadaanja, ukupan broj opraašenih prasadi i prosečan broj prasadi po leglu. Od ukupno 1874 osemenjenih krmača oprasile su se 1598, povadale 276, ukupan broj opraašenih prasadi je iznosio 20334. Prosečan broj prasadi po leglu je bio 12,72.

Tabela br. 20. Kontrola produktivnosti umatičenih krmača na farmi I.

Farma	Nerast		Broj ukupno osemenjenih krmača	Broj opraašenih krmača	Povadaanja	Ukupno opraašeno prasadi	Ukupan br. prasadi po leglu
	Tet. Broj	Rasa					
I	5743	Landras	162	137	25	1605	11,72
	2307	Jokšir	64	55	9	512	9,31
	2191	Jokšir	153	131	22	1471	11,23
	715	Durok	175	148	27	1803	12,18
	17559	Durok	363	314	49	4016	12,79
	9197	TOP-X, Tempo	296	253	43	3268	12,92
	2307 OA	Jokšir	360	320	40	4644	14,51
	45279	Jokšir	301	240	61	3015	12,56
Ukupno	-	-	1874	1598	276	20334	12,72

Na farmi II, iz tabele 21 se vidi da je ova kontrola produktivnosti obuhvatila ukupno 811 krmača i 5 nerastova. Evidentirani parametri produktivnosti su bili: broj ukupno osemenjenih krmača, broj povadaanja, ukupno opraašenih prasadi i ukupan broj prasadi po leglu. Od ukupno 811 osemenjenih krmača opraašeno je 638, broj povadaanja je bio 173, ukupan broj opraašenih prasadi je iznosio 6967. Prosečan broj prasadi u leglu je bio 10,92.

Tabela br. 21. Kontrola produktivnosti umatičenih krmača na farmi II

Farma	Nerast		Broj ukupno osemenjenih krmača	Ukupno opraseni	Povađanja	Ukupno opraseno prasadi	Ukupan br. prasadi po leglu
	Tet. broj	Rasa					
II	6047	Landras	70	50	20	533	10,66
	2074	Jokšir	154	118	36	1307	11,08
	5709	Landras	159	126	33	1473	11,69
	46690	Jokšir	203	161	42	1637	10,17
	47242	Jokšir	225	183	42	2017	11,02
Ukupno	-	-	811	638	173	6967	10,92

Kontrola produktivnosti na farmi III (tabela 22) je obuhvatila ukupno 1536 krmača i 6 nerastova, a evidentirani parametri produktivnosti su bili: broj ukupno osemenjenih krmača, broj povađanja, ukupno oprasjenih prasadi i ukupan broj prasadi po leglu. Od ukupno 1536 osemenjeni krmača oprasile su se 1084, broj povađanja je bio 452, ukupan broj oprasjenih prasadi je iznosio 12533. Prosečan broj prasadi po leglu je bio 11,56.

Tabela br. 22. Kontrola produktivnosti umatičenih krmača na farmi III.

Farma	Nerast		Broj ukupno osemenjenih krmača	Ukupno opraseni	Povađanja	Ukupno opraseno prasadi	Ukupan br. prasadi po leglu
	Tet. broj	Rasa					
III	9603	Landras	326	250	76	3253	13,01
	25730	Jokšir	169	117	52	1305	11,15
	138-08	Landras	231	147	84	1649	11,22
	5989	Durok	382	276	106	3047	11,04
	5124	Landras	261	174	87	1980	11,38
	5322	Jokšir	167	120	47	1300	10,83
Ukupno	-	-	1536	1084	452	12533	11,56

Na farmi IV, iz tabele 23 se vidi da je ova kontrola produktivnosti obuhvatila ukupno 1242 krmača i 11 nerastova, evidentirani parametri produktivnosti su bili: ukupno osemenjenih krmača, broj povađanja, ukupno oprasjenih prasadi i ukupan broj prasadi po leglu. Od ukupno 1242 osemenjenih krmača oprasile su se 779, broj povađanja je bio 645, ukupan broj oprasjenih prasadi je iznosio 10040. Prosečan broj prasadi po leglu je bio 12,89.

Tabela br. 23. Kontrola produktivnosti umatičenih krmača na farmi IV.

Farma	Nerast		Broj ukupno osemenjenih plotkinja	Ukupno opraseni	Povađanja	Ukupno opraseno prasadi	Ukupan br. prasadi po leglu
	Tet. Broj	Rasa					
IV	926	Jokšir	63	35	32	407	11,63
	4494	Durok	302	184	196	2429	13,20
	3943	Jokšir	24	13	16	174	13,38
	8330	Landras	9	2	8	27	13,50
	6048	Landras	159	105	62	1328	12,65
	936	Jorksir	124	88	53	1211	13,76
	1017	Jorksir	121	79	47	1081	13,68
	1314	Durok	77	40	50	518	12,95
	35571	Jorksir	71	26	50	237	9,11
	3956	Jorksir	169	125	63	1594	12,75
	4271	Jorksir	123	82	68	1035	12,62
Ukupno			1242	779	645	10040	12,89

Na farmi V, iz tabele 24 se vidi da je ova kontrola produktivnosti obuhvatila ukupno 1327 krmača i 8 nerastova, evidentirani parametri produktivnosti su bili: ukupan broj osemenjenih krmača, broj povađanja, ukupno oprasenih prasadi i ukupan broj prasadi po leglu. Od ukupno 1327 osemenjenih krmača oprasile su se 666, broj povađanja je bio 661, ukupan broj oprasenih prasadi je iznosio 6845. Prosečan broj prasadi po leglu je bio 10,28.

Tabela br. 24. Kontrola produktivnosti umatičenih krmača na farmi V.

Farma	Nerast		Broj ukupno osemenjenih krmača	Ukupno opraseni	Povađanja	Ukupno opraseno prasadi	Ukupan br. prasadi po leglu
	Tet. Broj	Rasa					
V	98864	Landras	128	76	52	822	10,82
	11121	Jorkšir	202	123	79	1303	10,59
	98956	Landras	376	157	219	1550	9,87
	11101	Jorkšir	128	74	54	801	10,82
	11098	Jorkšir	67	43	24	463	10,77
	98858	Landras	125	69	56	733	10,62
	87683	Jorkšir	126	68	58	666	9,79
	98961	Landras	175	56	119	508	9,07
Ukupno	-	-	1327	666	661	6845	10,28

Na farmi VI, iz tabele 25 se vidi da je ova kontrola produktivnosti obuhvatila ukupno 1037 krmača i 4 nerasta, evidentirani parametri produktivnosti su bili: ukupan broj osemenjenih krmača, broj povadaanja, ukupan broj opraašenih prasadi i ukupan broj prasadi po leglu. Od ukupno 1037 osemenjenih krmača oprasile su se 941, njih ukupno 96 je povadalo, ukupan broj opraašenih prasadi je iznosio 11685. Prosečan broj prasadi po leglu je bio 12,42.

Tabela br. 25. Kontrola produktivnosti umatičenih krmača na farmi VI.

Farma	Nerast		Broj ukupno osemenjenih krmača	Ukupno opraašeni	Povadaanja	Ukupno opraašeno prasadi	Ukupan br. prasadi po leglu
	Tet. Broj	Rasa					
VI	7314	Durok	230	195	35	2258	11,58
	6692	Jorksir	290	262	28	3529	13,47
	7312	Durok	305	287	18	3725	12,98
	8563	Landras	212	197	15	2173	11,03
Ukupno	-	-	1037	941	96	11685	12,42

Na farmi VII, iz tabele 26 se vidi da je ova kontrola produktivnosti obuhvatila ukupno 1009 krmača i 4 nerasta, a evidentirani parametri produktivnosti su bili: ukupan broj osemenjenih krmača, broj povadaanja, ukupan broj opraašenih prasadi i ukupan broj prasadi po leglu. Od ukupno 1009 osemenjenih krmača oprasila se 701, broj povadaanja je bio 308, ukupan broj opraašenih prasadi je iznosio 7870. Prosečan broj prasadi po leglu je bio 11,23.

Tabela br. 26. Kontrola produktivnosti umatičenih krmača na farmi VII.

Farma	Nerast		Broj ukupno osemenjenih krmača	Ukupno opraašeni	Povadaanja	Ukupno opraašeno prasadi	Ukupan br. prasadi po leglu
	Tet. Broj	Rasa					
VII	68PIE	Piettren	598	473	125	5421	11,46
	89 NL	Durok	175	56	119	508	9,07
	187 NL	Landras	35	29	6	327	11,28
	67 LW	Landras	201	143	58	1614	11,29
Ukupno	-	-	1009	701	308	7870	11,23

Na farmi VIII, iz tabele 27 se vidi da je ova kontrola produktivnosti obuhvatila ukupno 467 krmača i 2 nerasta, evidentirani parametri produktivnosti su bili: ukupan broj osemenjenih krmača, ukupan broj povadanja, broj ukupno opraašenih prasadi i ukupan broj prasadi po leglu. Od ukupno 467 osemenjeni krmača oprasile su se 339, broj povadanja je bio 47, ukupan broj opraašenih prasadi je iznosio 4580. Prosečan broj prasadi po leglu je bio 13,51.

Tabela br. 27. Kontrola produktivnosti umatičenih krmača na farmi VIII.

Farma	Nerast		Broj ukupno osemenetih plotkinja	Ukupno opraašeni	Povadanja	Ukupno opraašeno prasadi	Ukupan br. prasadi po leglu
	Tet. Broj	Rasa					
VIII	3168	Durok	41	34	3	517	15,21
	5508	Landras	426	305	44	4063	13,32
Ukupno	-	-	467	339	47	4580	13,51

Na farmi IX, iz tabele 28 se vidi da je ova kontrola produktivnosti obuhvatila ukupno 393 krmača i 2 nerasta, a evidentirani parametri produktivnosti su bili: ukupan broj osemenjenih krmača, ukupan broj povadanja, ukupno opraašenih prasadi i ukupan broj prasadi po leglu. Od ukupno 393 osemenjenih krmača oprasile su se 344, a povadale njih 57, dok je ukupan broj opraašenih prasadi iznosio 4150. Prosečan broj prasadi po leglu je bio 12,07.

Tabela br. 28. Kontrola produktivnosti umatičenih krmača na farmi IX.

Farmaarme	Nerast		Broj ukupno osemenetih krmača	Ukupno opraašenih	Povadanja	Ukupno opraseno prasadi	Ukupan br. prasadi po leglu
	Tet. Broj	Rasa					
IX	577	Jorksir	278	264	27	3485	13,20
	605	Durok	115	80	30	666	8,32
Ukupno	-	-	393	344	57	4150	12,07

U tabeli 29, prikazana je kontrola produktivnosti umatičenih krmača i nerastova u svih devet farmi. Prema podacima iz tabele se vidi da je kontrola produktivnosti obuhvatila ukupno 9696 krmača i 50 nerastova, a evidentirani parametri produktivnosti su bili: ukupan broj osemenjenih krmača, ukupan broj povadanja, ukupno opraašenih prasadi i ukupan broj prasadi po

leglu. Od ukupno 9696 osemenjenih krmača oprasile su se njih 7090, broj krmača koje su povadalea je bio 2606, broj ukupno oprasanih prasadi je iznosio 85004. Prosečan broj prasadi po leglu je bio 11,99. Prosečna vrednost prašenja (broj oprasanih od broja osemenjenih krmača), kretala se između 50% i 91% (prosečno 73.12%), procent povadavanja je bio između 9% do 50% (prosečno 26,88%) a ukupan broj prasadi u leglu kod rođenja se kretao između 10,28 i 13,51 (prosečno 11,99).

Tabela br. 29. Kontrola produktivnosti umatičenih krmača i nerastova na svih devet farmi.

Kontrolisane farme	Broj nerastova	Broj ukupno osemenjenih krmača	Ukupno oprasanih	Prosečna vrednost prašenja %	Povadavanja	% Povadavanja	Ukupno oprasano prasadi	Ukupan br. prasadi po leglu
I	8	1874	1598	85	276	15	20334	12,72
II	5	811	638	79	173	21	6967	10,92
III	6	1536	1084	71	452	29	12533	11,56
IV	11	1242	779	63	463	37	10040	12,89
V	8	1327	666	50	661	50	6845	10,28
VI	4	1037	941	91	96	9	11685	12,42
VII	4	1009	701	69	308	31	7870	11,23
VIII	2	467	339	73	128	27	4580	13,51
IX	2	393	344	88	49	12	4150	12,06
Ukupno	50	9696	7090	669	2606	231	85004	107,59
Sredna vrednost±SD		193,12±17,3	142,6±101,1	8,12±2,4	37,88±23,6	25,67±7,6	1700,1±1287,1	11,65±1,5

5.1.3. Kvalitet ejakulata nerasta po uzrastu

U tabeli broj 30, 31, 32 i 33 su prikazane ukupne vrednosti parametara ejakulata nerastova (volumen ejakulata (ml), progresivna pokretljivost (%), koncentracija spermatozoida $\times 10^6$, ukupan broj spermatozoida $\times 10^9$ i proteina (%)), podeljene prema starosti. Ukupno je ispitano 50 nerastova, od kojih je uzet po jedan ejakulat, odnosno ukupno 50 ejakulata. Prema starosnoj dobi nerastovi su bili podeljeni u 4 grupe (1 grupa do 1 godina., 2 grupa do 2 god., 3 grupa do 3 god. i 4 grupa nerasta od 4 god.)

Tabela br. 30. Kvalitet ejakulata nerastova po uzrastu.

N e r a s t			Vol., ml	Prog. pok. %	Konc., \times milio n	Ukup. broj sptz., \times mlrd .	Proteina , %
Tet. Broj	Rasa	Starost, mes.					Uzorak 1
5743	Landras	1 god	160	80	400	64	2,48
2307	Jokšir	1 god	200	75	390	78	3,2
2191	Jokšir	1 god	170	70	287	49	3,1
6047	Landras	1 god	130	70	327	42	1,82
2074	Jokšir	1 god	130	35	190	24	2,89
5709	Landras	1 god	180	63	176	31	3,81
46690	Jokšir	1 god	320	43	84	27	3,21
47242	Jokšir	1 god	390	65	199	78	3,31
9603	Landras	1 god	280	90	486	136	3,65
25730	Jokšir	1 god	280	75	314	87	2,34
98864	Landras	1 god.	287	70	323	92	1,94
11121	Jorkšir	1 god.	234	90	287	67	2,44
98956	Landras	1 god.	272	75	340	92	1,66
11101	Jorkšir	1 god.	171	80	414	70	2,43
11098	Jorkšir	1 god.	167	80	459	76	3,72
98858	Landras	1 god.	248	70	504	124	1,9

87683	Jorkšir	1 god.	272	90	415	97	2,84
98961	Landras	1 god.	145	80	374	54	1,79
68PIE	Piettren	1 god.	260	75	226	59	2,88
187 NL	Landras	1 god.	157	65	186	29	1,65
67 LW	Landras	1 god.	163	90	443	72	5,34
3168	Durok	1 god.	90	10	965	87	4,2
5508	Landras	1 god.	180	30	636	115	2,1
577	Jorkšir	1.god.	300	80	388	116	3,89
605	Durok	1. god	200	80	371	74	1,73
Prosek			199,48	64,11	340,15	68,15	2,60

Tabela br. 31. Kvalitet ejakulata nerastova po uzrastu.

N e r a s t			Vol., ml	Prog. pok. %	Konc., ×milion	Ukup. broj sptz., ×mlrd.	Proteina, %
Tet. Broj	Rasa	Starost, mes.					Uzorak 1
715	Durok	2 god	190	70	305	58	2,58
17559	Durok	2 god	230	85	315	71	2,94
9197	TOP-X, Tempo	2 god	240	85	284	68	2,60
2307 OA	Jokšir	2 god	190	80	375	70	3,10
45279	Jokšir	2 god	315	75	320	100,8	1,56
138-08	Landras	2 god	160	65	271	43	2,39
5989	Durok	2 god	280	80	256	71	3,88
Prosek			229,29	77,14	303,71	68,83	2,72

Tabela br. 32. Kvalitet ejakulata nerastova po uzrastu.

N e r a s t			Vol., ml	Prog. pok. %	Konc., ×milion	Ukup. broj sptz., ×mlrd.	Proteina, %
Tet. Broj	Rasa	Starost, mes.					Uzorak 1
6692	Jorksir	3.god	210	75	279	59	4,2
7312	Durok	3.god	200	80	439	88	3,9
8563	Landras	3. god.	420	30	188	79	2,47
5124	Landras	3 god	380	70	179	68	2,63
5322	Jokšir	3 god	150	80	579	86	1,79
4494	Durok	3 god.	150	85	248	37,2	3,01
3943	Jokšir	3 god.	100	65	220	22	3,58
6048	Landras	3 god.	200	75	196	39	2,27
936	Jorksir	3 god.	250	90	309	78	3,10
1017	Jorksir	3. god	300	65	238	71	2,42
3956	Jorksir	3. god.	300	90	293	88	4,2
4271	Jorksir	3.god	50	40	nemerljiv	nemerljiv	2,38
Prosek			225,83	70,42	264,00	59,60	3,00

Tabela br. 33. Kvalitet ejakulata nerastova po uzrastu.

N e r a s t			Vol., ml	Prog. pok. %	Konc., ×milion	Ukup. broj sptz., ×mlrd.	Proteina, %
Tet. Broj	Rasa	Starost, mes.					Uzorak 1
8330	Landras	4 god.	130	80	333	43	2,80
1314	Durok	4.god	70	75	140	9.8	2,98
35571	Jorksir	4.god	180	50	318	57	1,43
Prosek			126,67	68,33	263,67	36,60	2,40

5.1.4. Procentualna zastupljenost proteina različite molekulske mase

U cilju ispitivanja uticaja proteina različite molekulske mase na pokretljivost spermatozoida, prosečan broj povađanja i ukupan broj prasadi u leglu, proteini iz semene plazme podeljeni su u 5 kategorija u odnosu na molekulsku masu pojedinih frakcija proteina (prva grupa – 10-20kDa, druga grupa – 21 – 30 kDa, treća grupa – 31 – 40 kDa, četvrta grupa – 41 – 50kDa i peta grupa preko 51kDa). U tabelama 34, 35, 36 i 37 prikazana je procentualna zastupljenost

svake kategorije proteina posebno za sve ispitivane nerastove grupisane po rasama (jorkšir (n-22), landras (n-16) i durok (n-10) i ostali (n-2)). Rezultati koji su prikazani u tabeli br. 34 vidi se da je grupa proteina sa molekulskom masom od 21 – 30 kDa procentualno najviše zastupljena u odnosu na ostale kategorije, dok je kategorija proteina od 41 – 50 kDa sa najnižom procentualnom zastupljenost u semenju plazmi ispitivanih nerastova.

Tabela br. 34. Molekulska masa proteina kod rase jokšir

Jokšir	Molekulska masa proteina (% ukupno)				
	10-20	21-30	31-40	41-50	51>
35571	18,2	59,9	7,1	0,7	14,1
3956	32,2	39,4	21,8	6,1	0,5
0936	20,5	18,2	51,1	5,1	5,1
4271	23,4	52,4	14,4	5,2	4,6
1017	17,9	12,5	66	0,0	1,9
3943	31,4	57,2	10,1	0,0	1,3
0926	27,2	66,9	3,4	0,7	1,8
6692	20,7	60,4	9,7	3,5	5,7
25730	18,4	76,2	3,8	0,0	1,6
5322	25,2	63,3	7,4	1,7	2,2
11121	28,1	62,7	7,2	1,4	0,6
11098	29,5	41	20,9	5,4	3,2
87683	31,6	44,4	17,9	2,1	4
11101	28,5	30,9	37,7	0,2	2,7
977	21,1	46,2	25,6	3,8	3,3
2074	26	43,3	27,4	0,0	3,3
46690	26,5	64,1	5,1	1,8	2,5
47242	29,6	47,5	21,9	0,3	0,7
2307	25,5	49,4	22,3	0,3	2,5
2191	18,1	75,9	4,1	0,3	1,6
2307	24,8	50,3	20,2	0,4	4,4
45279	28,3	60,6	8,7	0,0	2,4
Sredna vrednost ± SD	25,12±4,7	51,03±16,3	18,67±16,3	2,29±2,1	3,18±2,8

Tabela br. 35. Molekulska masa proteina kod rase landras

Landras	Molekulska masa proteina (% ukupno)				
	10-20	21-30	31-40	41-50	>51
8563	32,9	63,4	2,2		1,5
8330	27,5	64,7	2,9	1,7	3,2
6048	12,7	59,9	12,3	4,7	10,4
9306	26,3	69,5	3,3		1
138-03	14,2	30,7	52,5	0,6	2
5508	26,9	55,2		17,3	0,6
98858	46,5	50,6	2		0,9
98864	43,7	54,1	1,4	0,3	0,5
5124	35,6	56,7		5,4	2,3
98961	26,2	69,9		0,6	3,3
5709	29	67,1	2,1		1,8
6047	33,2	56,5	2,2	2,3	5,8
97LW	27	50,5	14,4	5,6	2,5
187NL	34,2	50,8	12,2	0,4	2,4
5743	19,4	77,7	2	0,2	0,7
98956	27,4	52,7	18,3	0,1	1,5
Sredna vrednost ± SD	28,92±9,1	58,12±10,9	9,83±14,1	3,27±4,9	2,52±2,5

Tabela br. 36. Molekulska masa proteina kod rase durok

Durok	Molekulska masa proteina (% ukupno)				
	10-20	21-30	31-40	41-50	51>
7312	33,5	59,5	0,6	1,8	4,6
4494	34,3	49,1	9	3,9	3,7
1314	15,2	17,6	61,3	0,4	1
5989	24,2	19,1	51,8	0,8	4,1
605	26,9	56,5	10,3	3,6	2,7
7314	39,8	28,6	22,6	4,9	4,1
3168	28,2	61,6	2,4	0,3	7,5
89NL	24,4	27,6	19,8	17,2	11
0715	34,4	58	4,5	0,4	2,7
17559	20,1	72,4	4	0,2	3,3
Sredna vrednost ± SD	28,1±7,5	45 ±19,8	18,63±21,4	3,35±5,2	4,47±2,8

Tabela br. 37. Molekulska masa kod ostalih rasa

Drugo	Molekulska masa proteina (% ukupno)				
	10-20	21-30	31-40	41-50	51>
68PIE	33,5	46,3	17,4	0,0	2,8
9197	23,3	50,6	24,9	0,0	1,2
Sredna vrednost ± SD	28,4 ± 7,2	48,45 ± 3,0	21,15 ± 5,3	0,0	2,0 ± 1,1

5.2. REZULTATI EKSPERIMENTALNIH ISTRAŽIVANJA

Istraživanja su obuhvatila šest odvojenih eksperimenata.

Razlike vrednosti parametara kvaliteta ejakulata nerasta (volumen ejakulata (ml), progresivna pokretljivost spermatozoida (%), koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml ejakulata), ukupan broj spermatozoidi u ejakulatu ($\times 10^9$) i procenat frakcija proteina u spermalnoj plazmi) ispitivani su komparativnom analizom između devet velikih vojvođanskih farmi (**prvi eksperiment**), između tri rase neresta (landras, durok i jokšir) (**drugi eksperiment**) i između četiri starosne kategorije, od 1 godina do 4 godine starosti neresta (**treći eksperiment**). Takođe, u sva tri eksperimenata urađena je i analiza parametara kao kategoriski varijabilne.

Četvrti eksperiment obuhvata utvrđivanje povezanosti (korelacije) između procenta ukupnih proteina u spermalnoj plazmi i osnovnih parametara ejakulata (volumen ejakulata (ml) nerastova, progresivna pokretljivost (%) spermatozoida, koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml ejakulata), ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$)), kao i utvrđivanje povezanost - korelacija sadržaja ukupnih proteina u spermalnoj plazmi na povadañje, ukupno opraañenih i na ukupan broj prasadi po leglu.

U **petom eksperimentu** ispitivan je uticaj i povezanost između % proteina različite molekulske mase i sledećih parametra: progresivna pokretljivost spermatozoida, procenat povadañja (%) i ukupan broj prasadi po leglu, dok je u **šestom eksperimentu** ispitivana povezanost – korelacija različite procentualne zastupljenosti proteina različite molekulske mase na progresivnu pokretljivost, procenat povadañja (%), ukupan broj opraañenih krmaća i ukupan broj prasadi po leglu.

5.2.1. Prvi eksperiment

A. Parametri ejakulata nerasta po farmama

Tabelom broj 38 i grafikom 1, prikazane su zbirne vrednosti parametara ejakulata nerasta sa devet ispitivanih farmi. Ukupno je ispitano 50 nerastova, od kojih je uzet po jedan ejakulat odnosno ukupno 50 ejakulata. **Prosečan volumen ejakulata** je iznosio 214 ± 82 ml (raspon od 50 ml do 420 ml). Kada se uporede sve farme, najveći prosečan volumen ejakulata je imala farma broj šest (288 ± 104 ml; $n = 11$), a najniži volumen je bio na farmi broj osam, gde je prosečan volumen ejakulata iznosio 135 ± 64 ml ($n = 2$). **Prosečna progresivna pokretljivost** na svih devet farmi iznosila je 72 ± 18 % (kretala se od 10% do 95%). Prosečna progresivna pokretljivost je bila najveća na farmi sedam i iznosila je 81 ± 14 % ($n = 4$), a najniža je bila na farmi osam i iznosila je samo 20 ± 14 %. **Koncentracija spermatozoida** na svih devet farmi u proseku je iznosila ($330 \pm 144 \times 10^6$ /ml) i kretala se od 84×10^6 /ml do 965×10^6 /ml. Koncentracija spermatozoida najveća je bila na farmi broj osam ($801 \pm 233 \times 10^6$ /ml), a najniža na farmi broj dva i iznosila je $195 \pm 87 \times 10^6$ /ml ($n = 5$). **Prosečan broj spermatozoida** u ejakulatu bio je $68 \pm 27 \times 10^9$, a kretao se od 10×10^9 do 136×10^9 . Prosečan broj spermatozoida u ejakulatu je bio najveći na farmi broj osam ($101 \pm 20 \times 10^9$), a najmanji na farma broj dva $40 \pm 23 \times 10^9$. **Prosečan procenat ukupnih proteina** na svih devet farmi je iznosio $2,8 \pm 0,8$ %, a kretao se od 1,43% do 5,34%. Prosečan procenat ukupnih proteina najveći je bio na farmi broj šest i je iznosio $3,33 \pm 0,8$ % ($n = 4$), a najmanji na farmi pet ($n = 8$) i je iznosio $2,34 \pm 0,7$ %.

Tabela br. 38. Parametri ejakulata nerasta sa svih devet ispitivanih farmi

	Broj nerasta / Broj ispitanih ejakulata	Volumen (ml)	Progresivna pokretljivost (%)	Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml ejakulata)	Ukupan broj spermatozoida u ejakulatu ($\times 10^9$)	Proteini, %
I	8	212 \pm 50 160-315	78 \pm 6 70-85	335 \pm 47 284-400	70 \pm 15 49-101	2,70 \pm 0,5 1,56-3,20
II	5	230 \pm 118 130-390	55 \pm 15 35-70	195 \pm 87 84-327	40 \pm 23 24-78	3,0 \pm 0,7 1,82-3,81
III	6	255 \pm 87 150-380	77 \pm 9 65-90	348 \pm 152 179-579	82 \pm 31 43-136	2,78 \pm 0,8 1,79-3,88
IV	11	175 \pm 85 50-300	73 \pm 17 40-90	253 \pm 61 140-333	49 \pm 25 11-88	2,80 \pm 0,7 1,43-4,2
V	8	225 \pm 55 145-287	79 \pm 8 70-90	390 \pm 73 287-504	84 \pm 22 54-124	2,34 \pm 0,7 1,66-3,72
VI	4	288 \pm 104 200-420	64 \pm 23 30-80	299 \pm 104 188-439	80 \pm 15 59-92	3,33 \pm 0,8 2,47-4,20
VII	4	175 \pm 60 120-260	81 \pm 14 65-95	302 \pm 118 186-443	51 \pm 19 29-72	3,14 \pm 1,6 1,65-5,34
VIII	2	135 \pm 64 90-180	20 \pm 14 10-30	801 \pm 233 636-965	101 \pm 20 87-115	3,15 \pm 1,5 2,1-4,2
IX	2	250 \pm 71 200-300	80 \pm 0 80-80	380 \pm 12 371-388	95 \pm 30 74-116	2,81 \pm 1,5 1,73-3,89
p-value		IV vs VI p=0.02* VI vs VIII p=0.032*	I vs VIII p=0.0002** III vs VIII p=0.00028** IV vs VIII p=0.00029** V vs VIII p=0.00016** VI vs VIII p=0.01* VII vs VIII p=0.00024**	I vs VIII p=0.00014** II vs VIII p=0.00013** III vs VIII p=0.00015** IV vs VIII p=0.00013** V vs VIII p=0.0002** VI vs VIII p=0.0001* VII vs VIII p=0.0001** II vs V p=0.02*	II vs VIII p=0.028* IV vs VIII p=0.044* VII vs VIII p=0.039*	p=0,6 ns

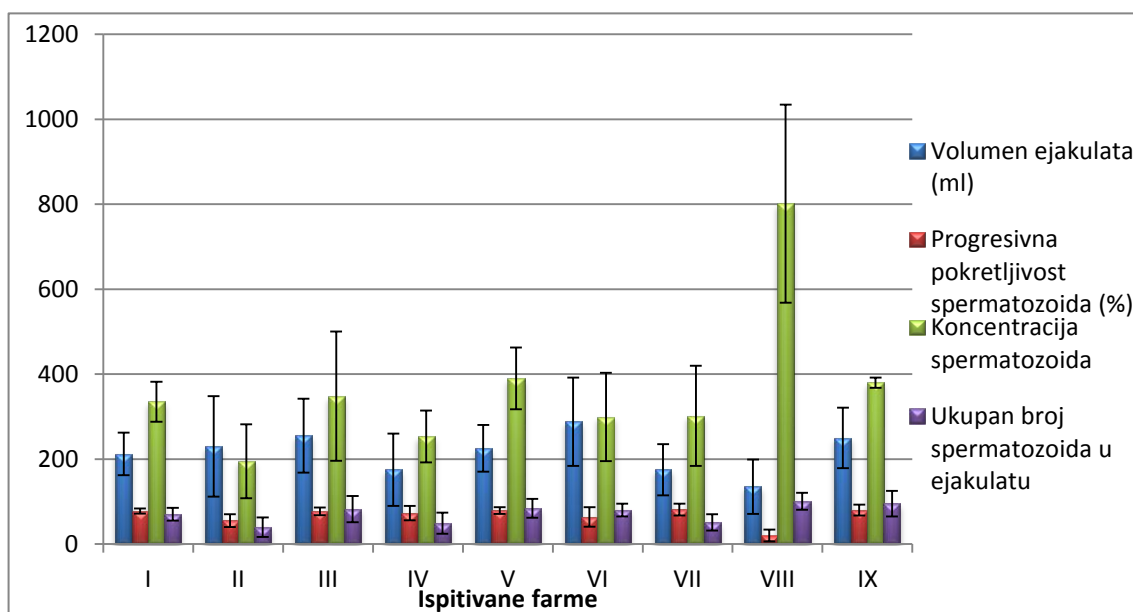
Izvor: Reproductivna evidencija farme.

Razlike koje postoje u **prosečnom volumenu** ejakulata između nerasta sa svih devet analiziranih farmi su bili statistički neznačajni (nesignifikantni) ($p = 0,18$). Pojedinačni testovi između farmi pokazali su da je najveća razlika u prosečnom volumenu ejakulata, između nerastova sa farme IV i VI (288 ± 104 vs 175 ± 85) ($p = 0,02$) i farme VI i VIII (288 ± 104 vs 135 ± 64), ($p = 0,032$).

Analizirane farme signifikantno se razlikuju u odnosu na **prosečnu progresivnu pokretljivost** spermatozoida ($p=0,00003$). Post-hoc analiza je potvrdila signifikantno nižu ($p<0.01$) progresivnu pokretljivost spermatozoida kod nerasta iz farme VIII (20 ± 14) u odnosu na farme I (78 ± 6), III (77 ± 9), IV (73 ± 17), V (79 ± 8), VI (64 ± 23) i VII (81 ± 14).

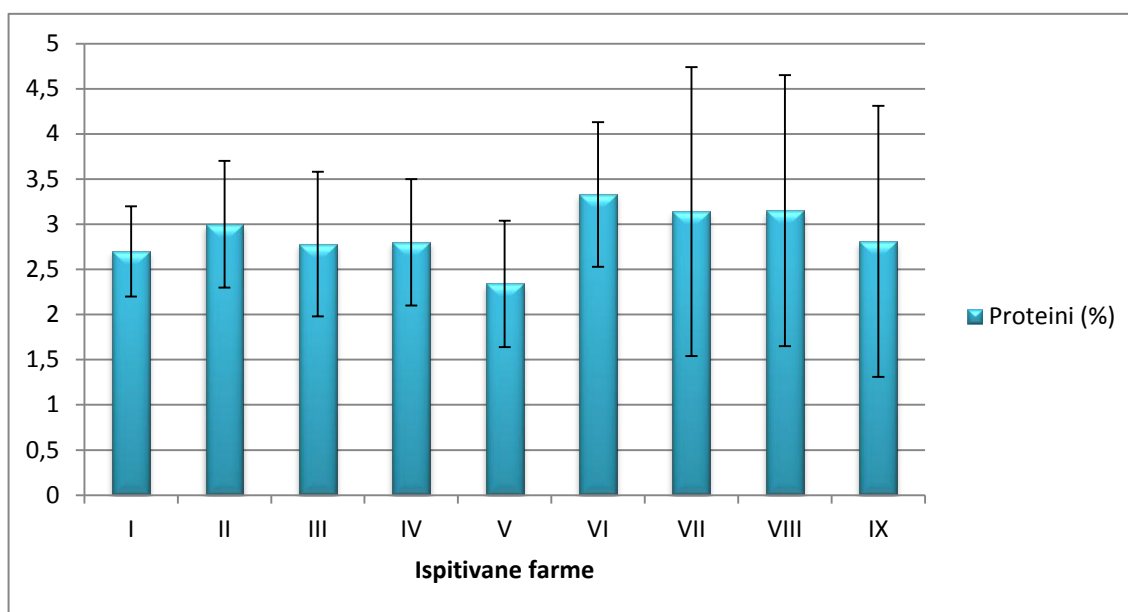
Analizirane vrednosti **prosečne koncentracije spermatozoida** kod nerasta ukazuju da postoji statistički signifikantna razlika između svih devet ispitivanih farmi ($p=0,000001$). Post-hoc analiza potvrđuje statistički značajno veću koncentraciju spermatozoida kod nerestova na farmi VIII u odnosu na nerestove sa ostalih farmi ($p<0.01$), kako i signifikantno veću koncentraciju spermatozoida na farmi V u odnosu na farmu II ($p<0.05$).

Statistički značajna razlika utvrđena je i kod **ukupnog broja spermatozoida**, između nerastova sa svih devet analiziranih farmi ($p=0,0017$). Broj spermatozoida na farmi VIII (101 ± 20) u proseku je bio signifikantno veći ($p<0.05$) u odnosu na farmu II (40 ± 23), farmu IV (49 ± 25) i farmu VII (51 ± 19).



Grafikon 1. Grafički prikaz parametara ejakulata nerastova sa svih devet ispitivanih farmi

U odnosu na **procentualne zastupljenosti ukupnih proteina** u ejakulatu, analiza rezultata nije pokazala da se ove vrednosti signifikantno razlikuju ($p=0,6$) između analiziranih farmi. Najveća prosečna vrednost proteina bila je utvrđena na farmi VI ($3,33 \pm 0,8$), najmanja na farmi V ($2,34 \pm 0,7$), s time da je razlika od 0.99 nije bila statistički signifikantna, (Tabela 38 i grafikon 2).



Grafikon 2. Grafički prikaz procenata ukupnih proteina na svih devet farma.

B. Analiza parametara svih devet farmi analiziranih kao kategorijski varijabilne

U tabeli br 39 i grafikonima 4, 5 i 6, prikazana je analiza **volumena ejakulata** ispitivanih nerastova u dve kategorije nerasta: nerasti sa volumenom ejakulata manjim od 119 ml i nerastovi sa volumenom ejakulata većim od 120ml. Volumen ejakulata na većini farmi je bio veći od 120 ml (I,II,III, V, VI, VII i IX). Kod 11 nerastova sa farme IV, veći volumen ejakulata od 120 ml imali su 8 nerastova (72,73%), dok je na farmi VIII kod jednog nerasta izmeren volumen ejakulata manji od 120 ml, a kod jednog veći volumen od 120 ml.

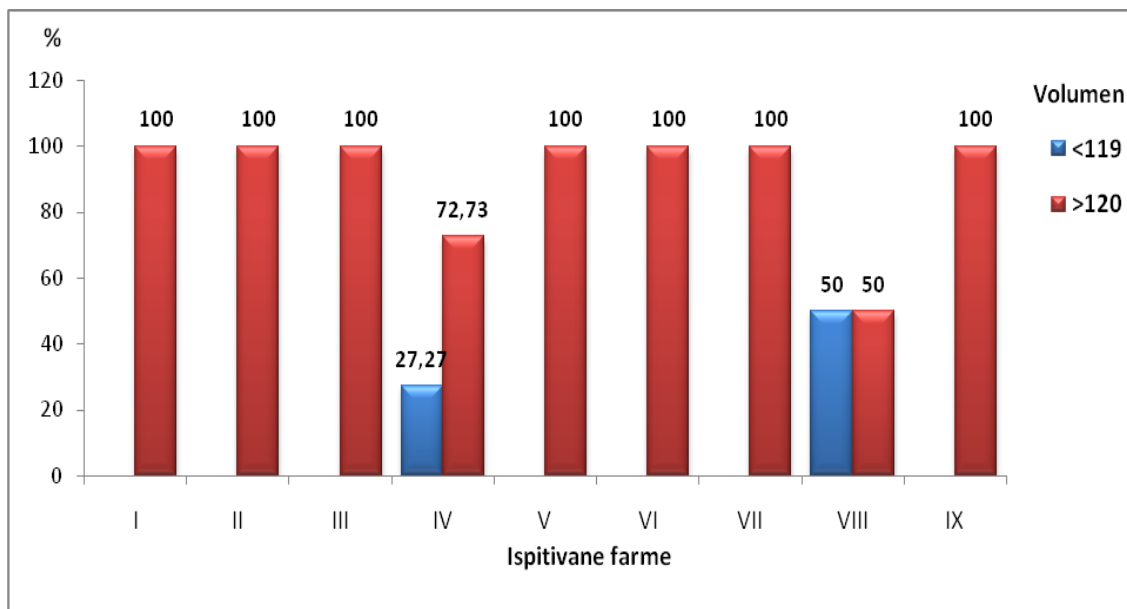
Dobijene vrednosti **progresivne pokretljivosti spermatozoida** bile su podeljene na kategoriju sa progresivnom pokretljivošću (pp) manjom od 64% i kategoriju sa pp većom od 65%. Progresivna pokretljivost spermatozoida kod nerastova na farmi I, III, V, VII i IX bila je veća od 65%. Ovakva pokretljivost spermatozoida bila je utvrđena i kod 40% nerastova na farmi II, 81,82% sa farme IV, i kod 75% nerastova sa farme VI.

Analiza **koncentracije spermatozoida** u ejakulatu nerastova na svih devet farmi rađena je u dve grupe: grupa nerastova sa koncentracijom spermatozoida manjom od $199 \times 10^6/\text{ml}$ (%) i većom od $200 \times 10^6/\text{ml}$ (%). Koncentracije spermatozoida kod nerastova na farmi I, V, VIII i IX bila je veća od $200 \times 10^6/\text{ml}$ (%). Takođe, procentualno (%), veća koncentracija spermatozoida od $200 \times 10^6/\text{ml}$, bila je izmerena na farmi II kod 20% nerastova, farmi III kod 83,33% nerastova, 80% na farmi IV i 75% na farmama VI i VII.

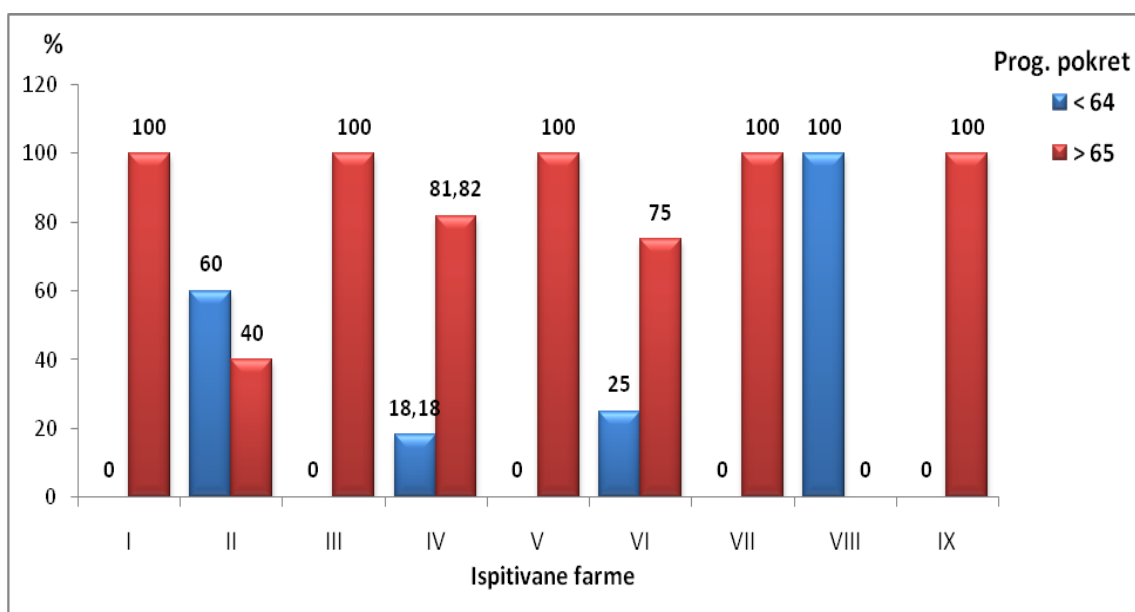
Prema procentu **zastupljenosti ukupnih proteina** u ejakulatu nerastovi sa svih devet farmi, bili su podeljeni u tri kategorije (< 3,0; 3,1 – 3,5; > 3,6). Procenat proteina niži od 3,0% češće je bio registovan kod nerastova na svim ispitivanim farmama, dok je procenat od 3,1% do 3,5% proteina u ejakulatu utvrđen kod 37,5% nerastova na farmi I, kod 40,0% nerastova sa farme II, i 27,27% nerastova sa farme IV. Koncentracija proteina veća od 3,6% bila je registrovana kod po jednog nerasta na farmama II, IV, V, VII, VIII i IX, kao i kod 2 nerasta na farmi III i VI.

Tabela 39. Parametri ejakulata nerastova sa svih devet ispitanih farmi (volumen, progresivna pokretljivost, koncentracija spermatozoida i procenat ukupnih proteina).

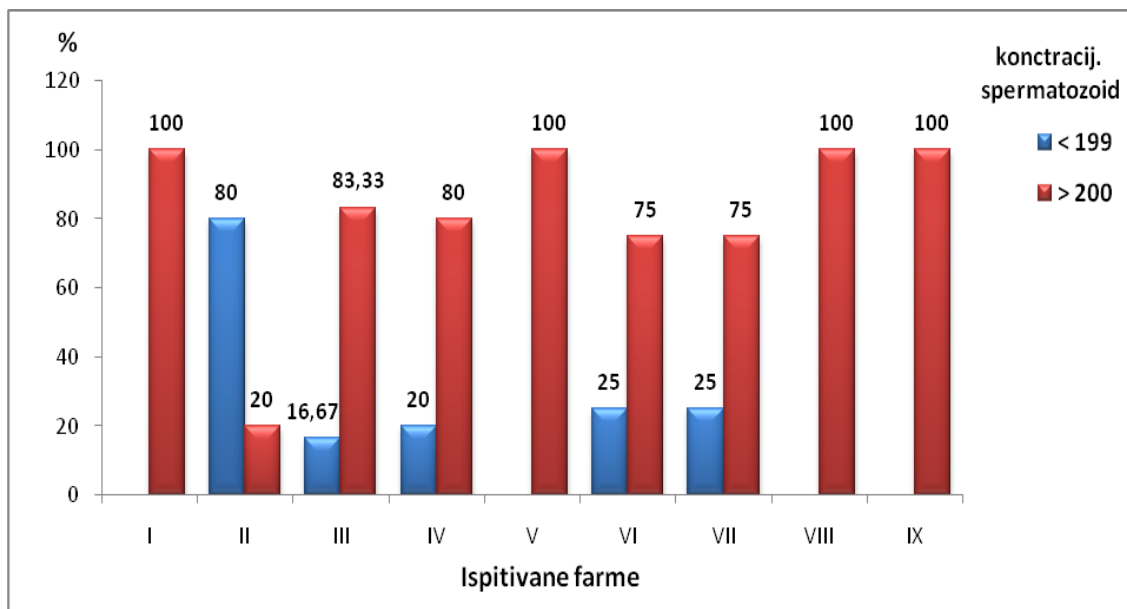
Farma	Volumen (ml) n (%)		Progresivna pokretljivost (%) n (%)		Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6/\text{ml}$) n (%)		Proteini % n (%)		
	<119	>120	< 64	> 65	< 199	> 200	< 3	3 – 3.5	> 3.6
I	0	8 (100)	0	8 (100)	0	8 (100)	5 (62,5)	3 (37,5)	0
II	0	5 (100)	3 (60)	2 (40)	4 (80)	1 (20)	2 (40)	2 (40)	1 (20)
III	0	6 (100)	0	6 (100)	1 (16,67)	5 (83,33)	4 (66,67)	0	2 (33,33)
IV	3 (27,27)	8 (72,73)	2 (18,18)	9 (81,82)	2 (20)	8 (80)	7 (63,64)	3 (27,27)	1 (9,09)
V	0	8 (100)	0	8 (100)	0	8 (100)	7 (87,5)	0	1 (12,5)
VI	0	4 (100)	1 (25)	3 (75)	1 (25)	3 (75)	2 (50)	0	2 (50)
VII	0	4 (100)	0	4 (100)	1 (25)	3 (75)	3 (75)	0	1 (25)
VIII	1 (50)	1 (50)	2 (100)	0	0	2 (100)	1 (50)	0	1 (50)
IX	0	2 (100)	0	2 (100)	0	2 (100)	1 (50)	0	1 (50)
Ukupno	4	46	8	42	9	40	32	8	10



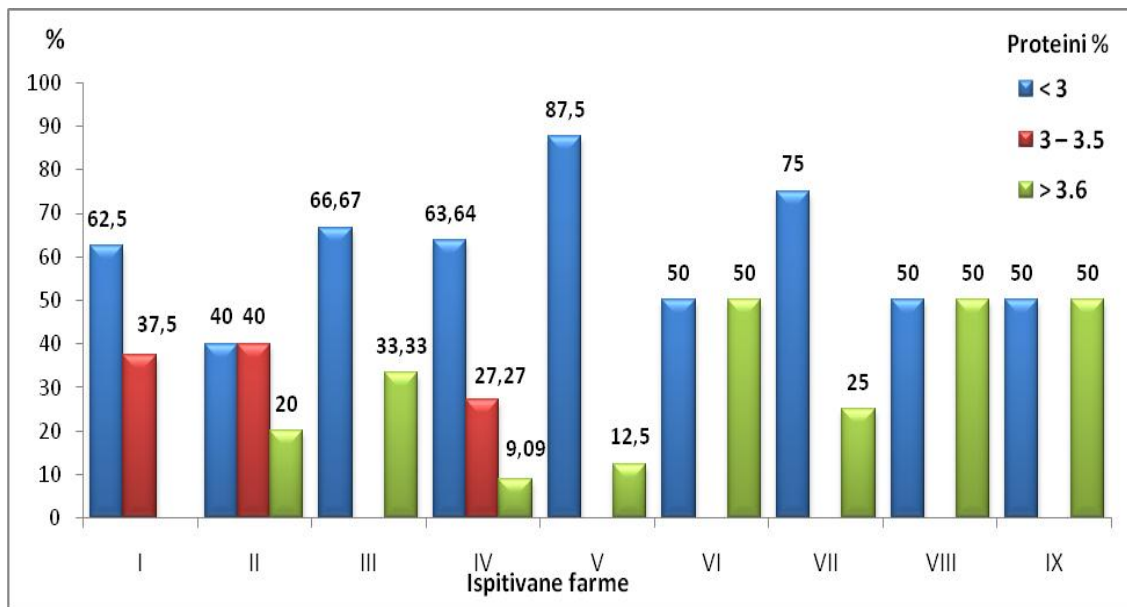
Grafikon 3. Grafički prikaz volumena ejakulata (%) kod nerastova na svih devet farmi, ejakulati <119ml i ejakulati >120 ml.



Grafikon 4. Grafički prikaz progresivne pokretljivosti (%) spermatozoida kod nerastova <64 i >65.



Grafikon 5. Procentualni prikaz koncentracije spermatozoida $< 199 \times 10^6/\text{ml}$ i $> 200 \times 10^6/\text{ml}$.



Grafikon 6. Grafički prikaz procenta ukupnih proteina na farmama.

5.2.2. Drugi eksperiment

A. Parametri ejakulata nerastova po rasama

Rezultati i ukupne vrednosti osnovnih parametara ejakulata nerastova rase landras (n=16), jorkšir (n=22) i durok (n=9) ispitane na svih devet farmi, prikazane su u tabeli 40 i grafikonima 7 i 8. Ukupno je ispitano 47 nerastova, od kojih je uzet po jedan ejakulat odnosno ukupno 47 ejakulata.

U tabeli br. 40 i grafikonu br. 7, može se videti da su rezultati istraživanja pokazali nesignifikantno različite vrednosti u **volumenu ejakulata** između tri analizirane rase nerastova ($p=0,5$). Najveći volumen ejakulata u proseku je bio izmeren kod nerastova rase jorkšir (222 ± 83), dok je najmanji kod rase durok (184 ± 85), ali razlika od 38 ml nije bila statistički značajna.

Nerastovi rase landras su imali nesignifikantno nižu **progresivnu pokretljivost** spermatozoida (68 ± 17), u odnosu na nerastove rase jorkšir (72 ± 17) i rase durok (73 ± 25) ($p=0,69$).

Između nerastova rase landras, jorkšir i durok, nije postojala statistički signifikantna razlika u **koncentraciji spermatozoida** ($p=0,9$).

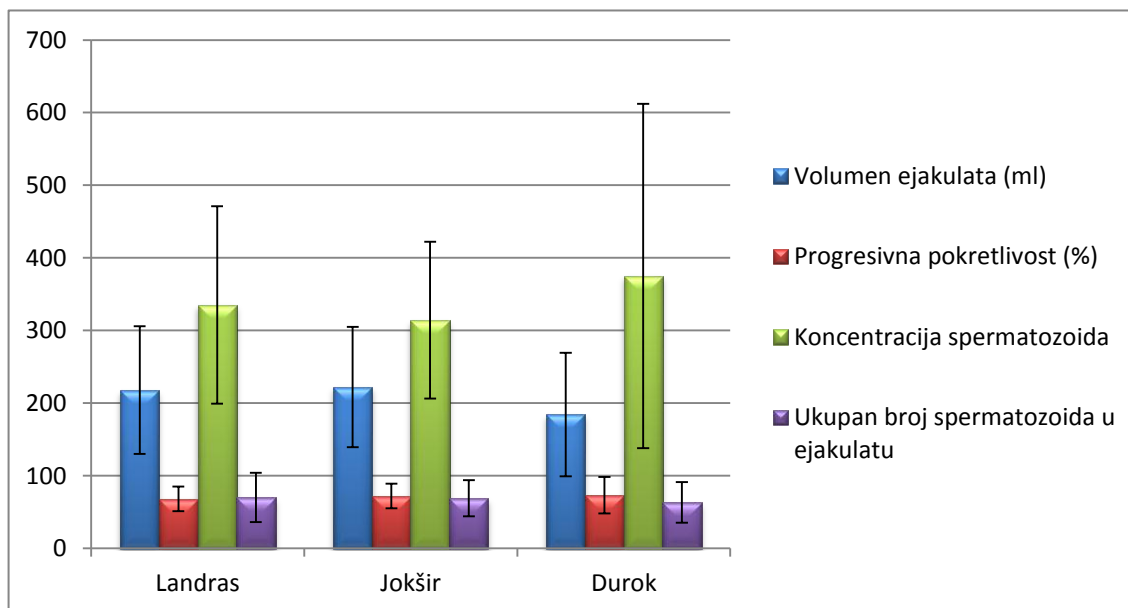
Ukupan broj spermatozoida u proseku je bio najveći kod nerastova rase landras ($70 \times 10^9 \pm 34$), zatim rase jorkšir ($69 \pm 25 \times 10^9$) i rase durok ($63 \pm 28 \times 10^9$), ali razlike između nerastova ovih rasa u odnosu na ukupni broj spermatozoida statistički nisu bili signifikantni, ($p=0,85$).

Statistički nesignifikantne razlike ($p=0,42$) utvrđene su i analizom vrednosti **procenatualne zastupljenosti ukupnih proteina** u ejakulatu kod nerastova rase durok ($2,93 \pm 0,9$), zatim kod rase jorkšir ($2,85 \pm 0,8$), i rase landras ($2,51 \pm 1,0$), i pored toga što je kod rase durok utvrđen najveći procenat, dok je kod rase landras utvrđen namanji procenat proteina u ejakulatu ispitanih nerastova (tabela br. 40 i grafikon br.8).

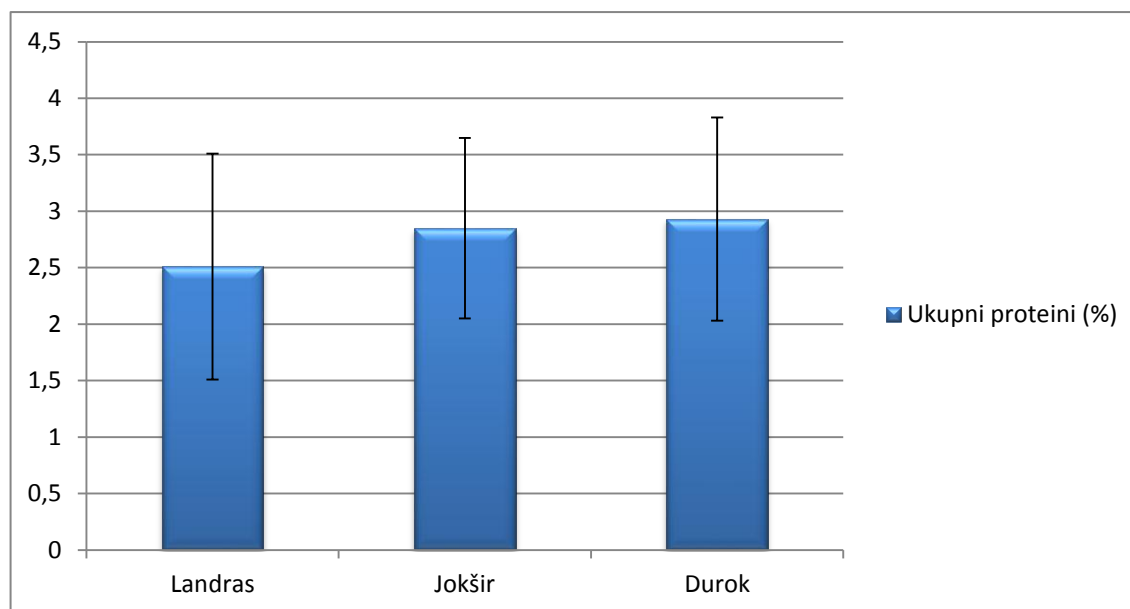
Tabela 40. Parametri kvaliteta nativnih ejakulata nerastova po rasama.

Parametri	Rasa			P value
	Landras	Jokšir	Durok	
Broj nerastova/ ejakulata/ (n)	16	22	9	/
Volumen ejakulata (ml)	218±88 130-420	222±83 50-390	184±85 70-320	P = 0,5
Progresivna pokretljivost (%)	68±17 30-90	72±17 35-90	73±25 10-95	P = 0,69
Koncentracija spermatozoida x 10 ⁶	335±136 176-636	314±108 84-579	375±237 140-965	P = 0,9
Ukupan broj spermatozoida x10 ⁹	70±34 29-136	69±25 22-116	63±28 8-92	P = 0,85
Ukupni proteini, %	2,51±1,0 1,65-5,34	2,85±0,8 1,43-4,2	2,93±0,9 1,73-4,2	P = 0,42
Dobrih ejakulata * (%)	56 16/9	77 22/17	78 9/7	-

*Procenat dobrih ejakulata (%) Volumen ≥ 120 ml; Koncentracija spermatozoida $\geq 200 \times 10^6$ /ml ejakulata; Prog. pokret. $\geq 65\%$.



Grafikon br. 7. Prikaz parametara kvaliteta nativnih ejakulata kod nerastova sve tri rase ($x \pm$ SD).



Grafikon br. 8. Prikaz procentualne zastupljenosti ukupnih proteina u ejakulatu kod nerastova sve tri rase ($x \pm SD$).

B. Analiza parametara za sve tri rase analizirane kao kategoriski varijabilne

U tabeli br. 41 i grafikonima 9, 10, 11 i 12, prikazana je analiza **volumena ejakulata, progresivne pokretljivosti, koncentracije spermatozoida i procenat ukupnih proteina.**

Volumen ejakulata veći od 120 ml bio je izmeren kod svih nerastova rase landras ($n=16$), kod 90,91% nerastova rase jokšir ($n=20/22$), i 66,67% nerastova rase durok ($n=6/9$). Testirana razlika volumena ejakulata veći od 120 ml i manjih od 119 ml između ispitivanih nerastova sve tri rase, potvrdila se kao statistički značajna ($p=0.036$).

Progresivna pokretljivost spermatozoida veća od 65% registrovano je kod najvećeg broja nerestova rase durok ($n=8/9$, 88,89%) upoređeno sa nerastovima rase landras ($n=11/16$, 68,75%) i jokšir ($n=15/22$, 68,18%) ali razlika nije bila signifikantna ($p=0,58$).

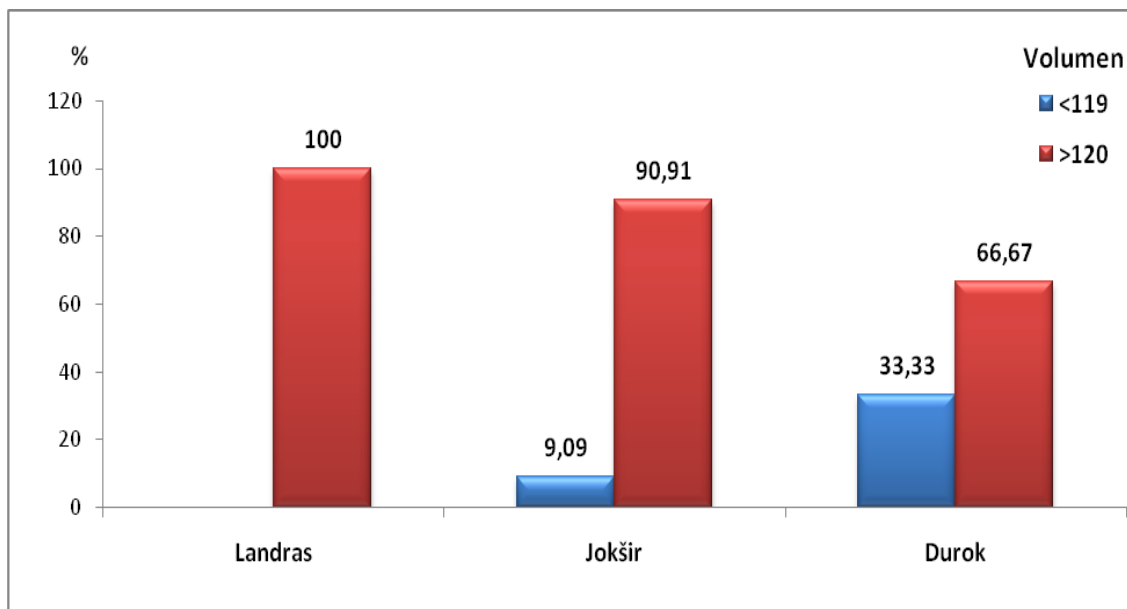
Utvrđena razlika **koncentracije spermatozoida** veća od $200 \times 10^6/\text{ml}$ između nerastova rase durok ($n=8/9$, 88,89%), rase jorkšir ($n=18/22$, 85,71%) i rase landras ($n=11/16$, 68,75%) nije bila statistički signifikantna ($p=0.358$), pored toga što je utvrđen najveći procenat nerastova rase durok sa koncentracijom spermatozoida većom od $200 \times 10^6/\text{ml}$ ejakulata, a najnižom rase landras.

Procenat ukupnih proteina manji od 3% bio je izmeren kod 81,25% (n=13/16) nerastova rase landras, 50% (n=10/22) nerastova rase jokšir i 55% (n=5/9) nerastova rase durok. Procenat proteina od 3,0% do 3,5% bio je izmeren kod 31,82% (n=7/22) nerastova rase jokšir i 11,1% nerastova rase durok. Procenat proteina viši od 3,6% bio je izmeren kod 18,75% nerastova rase landras, 18,18% nerastova rase jokšir, i 33,33% nerastova rase durok. Ove opisane razlike o procentualnoj zastupljenosti proteina u ejakulatu kod nerasta rase landras, jokšir i durok nisu statistički značajne (p=0,078).

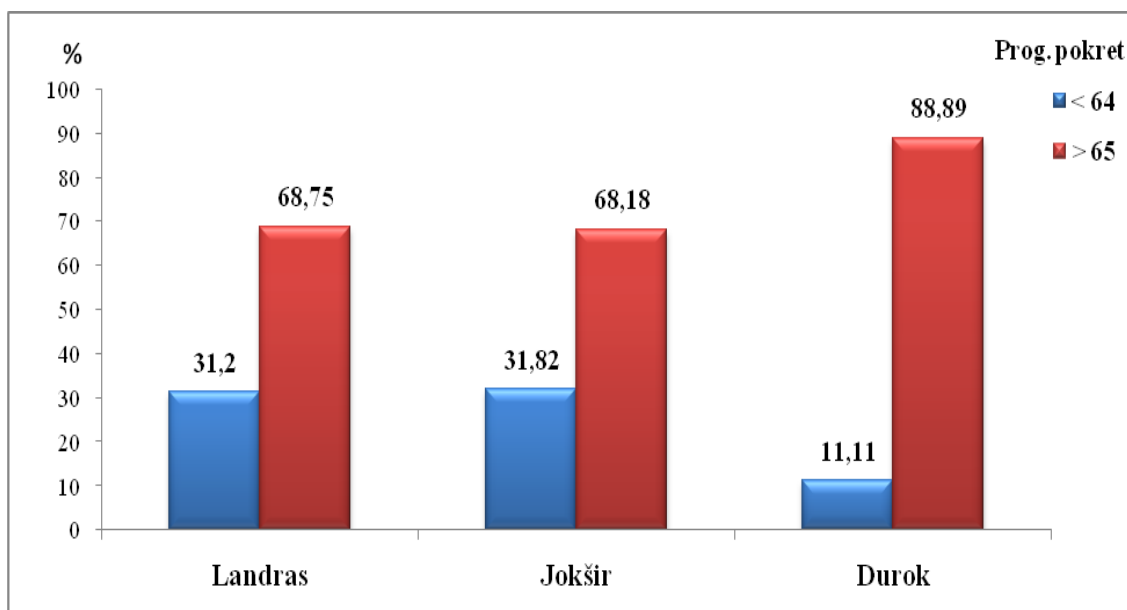
Tabela 41. Parametri kvaliteta nativnih ejakulata nerastova po rasama.

Parametri		Rasa			Ukupno
		Landras n(%)	Jokšir n(%)	Durok n(%)	
Volumen ml	<119	0	2 (9,09)	3 (33,33)	5
	>120	16 (100)	20 (90,91)	6 (66,67)	42
	Fisher p=0.036 sig				
Prog. pokretljivost %	< 64	5 (31,25)	7 (31,82)	1 (11,11)	13
	> 65	11 (68,75)	15 (68,18)	8 (88,89)	34
	Fisher p=0.58 ns				
Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml ejakulata)	< 199	5 (31,25)	3 (14,29)	1 (11,11)	9
	> 200	11 (68,75)	18 (85,71)	8 (88,89)	37
	Fisher p=0.385 ns				
Proteini %	< 3	13 (81.25)	11 (50)	5 (55.55)	29
	3 – 3.5	0	7 (31.82)	1 (11.11)	8
	> 3.6	3 (18.75)	4 (18.18)	3 (33.33)	10
	Fisher p=0.078 ns				

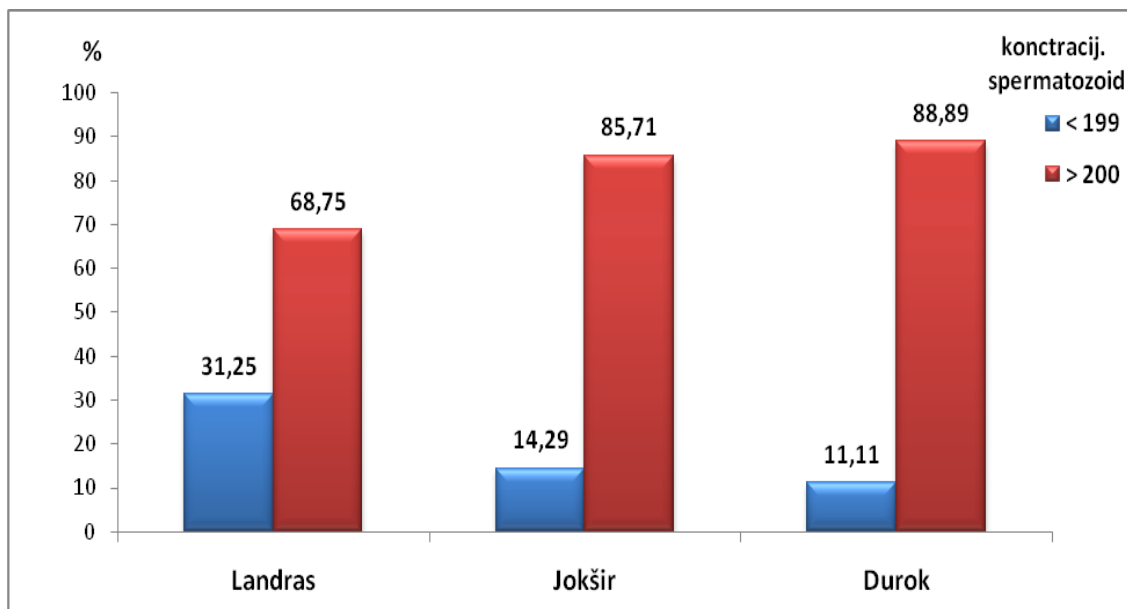
Dobrih ejakulata (%) Volumen ≥ 120 ml; Prog. pokret. $\geq 65\%$; Koncentracija spermatozoida $\geq 200 \times 10^6$ /ml ejakulata;



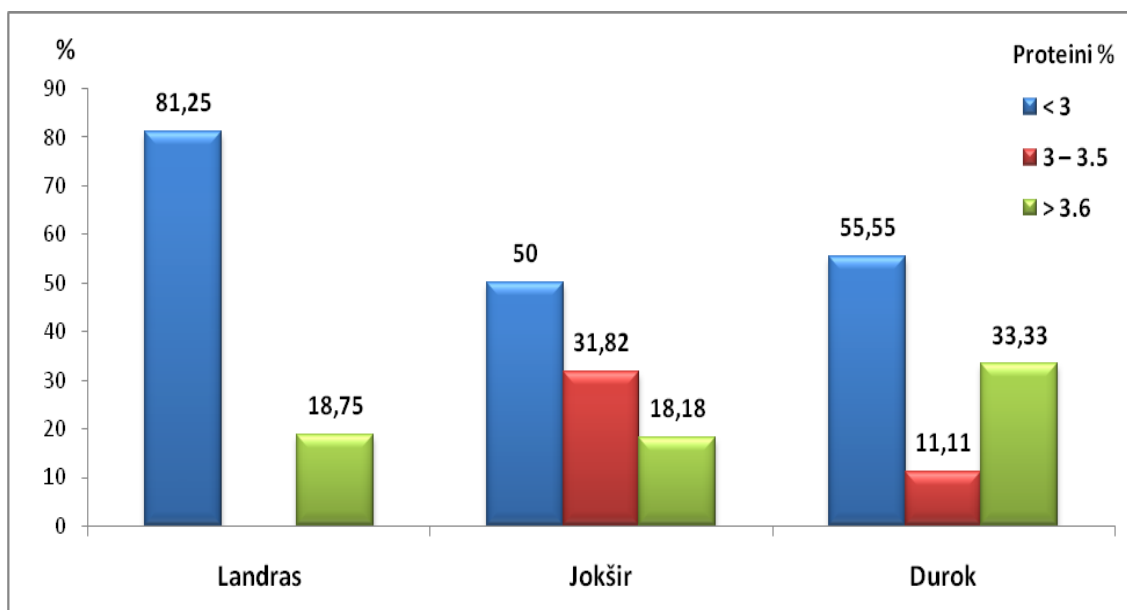
Grafikon br.9. Grafički prikaz volumena ejakulata u procentima kod nerastova sve tri rase, ejakulati <119ml i ejakulati >120 ml.



Grafikon br.10. Grafički prikaz procenta progresivne pokretljivosti spermatozoida kod nerastova po rasama, <64 i >65.



Grafikon br.11. Procentualni prikaz koncentracije spermatozoida po rasama , <math><199 \times 10^6/\text{ml}</math> i $>200 \times 10^6/\text{ml}$.



Grafikon br.12. Procentualni prikaz zastupljenosti ukupnih proteina po rasama (<math><3,0</math>; $3,0-3,5$ i $>3,6$).

5.2.3 Treći eksperiment

Uticaj starosti nerastova na parametare ejakulata

Uticaj starosti na parametare ispitivanih ejakulata nerastova, prikazan je u tabeli br. 42 i grafikonu br. 13. U tabeli su prikazane zbirne vrednosti parametara ejakulata (**volumen ejakulata (ml)**, **progresivna pokretljivost (%)**, **koncentracija spermatozoida x 10⁶**, **ukupan broj spermatozoida x10⁹** i kao i **zastupljenost ukupnih proteina, (%)**). Ukupno je ispitano 50 nerastova, od kojih je uzet po jedan ejakulat. Tako je dobijeno ukupno 50 ejakulata. Nerastovi su bili podeljeni prema starosnim kategorijama u 4 grupe (1 grupa do 1 godina., 2 grupa do 2 god., 3 grupa do 3 god. i 4 grupa nerasta od 4 god.)

Rezultati istraživanja **volumena ejakulata** između četiri analizirane grupe nerastova pokazali su da nerastovi iz treće grupe do 3 godine starosti imaju najveći volumen ejakulata (233 ± 108) u odnosu na ostale 3 grupe, dok je najmanji volumen utvrđen kod nerastova 4 grupe do 4 godine starosti (145 ± 58). Statističkom analizom rezultata nije bila utvrđena statistički značajna razlika volumena ejakulata između četiri analizirane grupe nerastova.

Analizom **progresivne pokretljivosti** spermatozoida u ispitanim ejakulatima, između četiri analizirane grupe nerastova, utvrđeno je da najveća prosečna progresivna pokretljivost spermatozoida bila kod nerastova do dve godine starosti ($79\% \pm 9,42$), a najmanja u grupi kod nerastova do jedne godine starosti ($69\% \pm 19,93$). Razlika progresivne pokretljivosti spermatozoida nije bila statistički značajna između četiri analizirane grupe nerastova.

Statistički značajna razlika ($p = 0,049$) utvrđena je tokom analize dobijenih vrednosti prosečne **koncentracije spermatozoida** u ejakulatu nerastova prve grupe do 1 godine starosti ($367,36 \pm 174,69$) i treće grupe nerastova do 3 godine starosti ($265,92 \pm 136,53$).

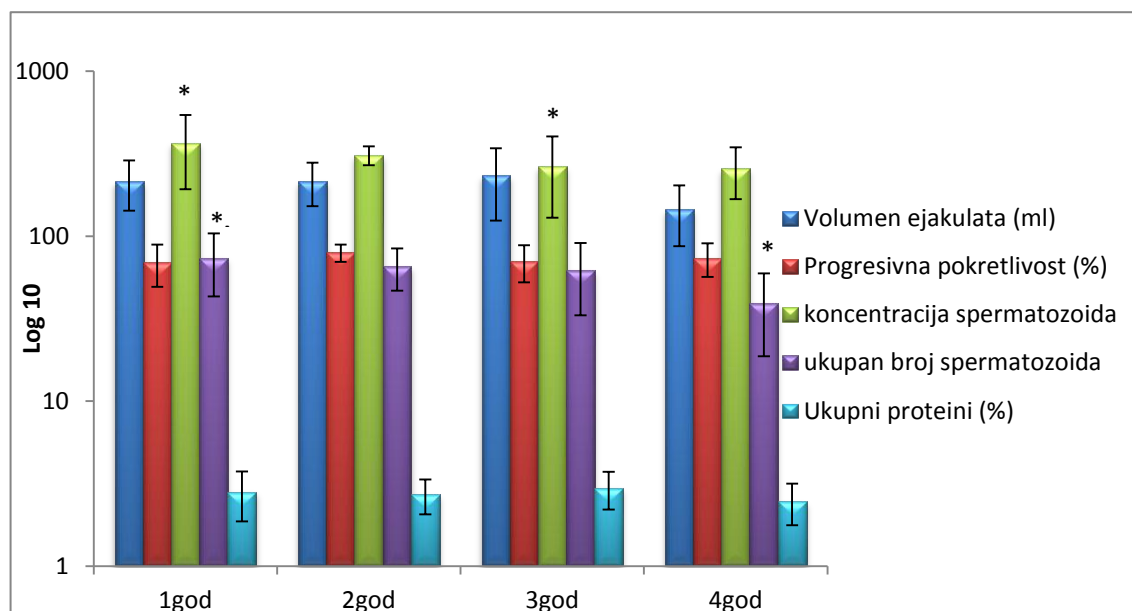
Ukupan broj spermatozoida u proseku je bio najveći kod grupe nerastova od 1 godine ($73,60 \pm 30,52$), dok najmanji prosek imala je grupa nerastova od 4 godina starosti ($39,20 \pm 20,46$). Razlike su pokazale da signifikantnost postoji između nerastova do jedne godine starosti i nerastova do četiri godine starosti ($p = 0,027$).

Rezultati istraživanja vrednosti procentualne zastupljenosti **ukupnih proteina** između analizirane grupe pokazali su da je u grupi do 3 godine starosti, postoji najveća prosečna

zastupljenost ukupnih proteina ($2,97 \pm 0,8$), dok je najniža vrednost utvrđena u grupi nerastova do 4 godine starosti ($2,47 \pm 0,83$). Statističkom analizom rezultata nije bila utvrđena statistički značajna razlika procentualne zastupljenosti ukupnih proteina između grupa ispitivanih ejakulata ($p > 0,05$).

Tabela 42. Prikaz parametara ejakulata po uzrastu.

Uzrast	1 god.	2 god.	3 god.	4 god	p
N	25	8	13	4	
	Sredna vrednost \pm SD	Sredna vrednost \pm SD	Sredna vrednost \pm SD	Sredna vrednost \pm SD	
Volumen (ml)	215,44 \pm 72,37	215,62 \pm 63,66	233,07 \pm 108,42	145,00 \pm 58,02	p > 0,05 (NS)
Progresivna pokretljivost (%)	69,24 \pm 19,93	79,37 \pm 9,42	70,38 \pm 17,84	73,75 \pm 17,01	p > 0,05 (NS)
Koncentracija spermatozoida ($\times 10^6$ /ml ejakulata)	367,36 \pm 174,69	309,87 \pm 40,24	265,92 \pm 136,53	256,50 \pm 88,82	p < 0,05 (I – III p - 0.049)
Ukupan br. Spermatozoida ($\times 10^9$ /ml)	73,60 \pm 30,52	65,47 \pm 18,70	62,09 \pm 28,99	39,20 \pm 20,46	p < 0,05 (I – IV p - 0.027)
Procenat proteina (%)	2,81 \pm 0,94	2,71 \pm 0,65	2,97 \pm 0,77	2,47 \pm 0,70	p > 0,05 (NS)



Grafikon br.13. Prikaz parametara ejakulata po uzrastu: (volumen (ml), progresivna pokretljivost (%), koncentracija spermatozoida (10⁶/ml), ukupan broj spermatozoida (10⁹/ml), ukupni proteini (%); NS ; *** p< 0.001; ** p< 0.01; *p< 0.05

5.2.4. Četvrti eksperiment

A. Analiza parametara ejakulata za sve tri kategorije prema procentualnoj zastupljenosti ukupnih proteina, analizirane kao kategorijski varijabilne.

Parametri ejakulata za sve tri kategorije prema procentualnoj zastupljenosti ukupnih proteina, analizirane kao kategorijski varijabilne, prikazani su u tabeli broj 43.

Prosečan volumen ejakulata iznosio je 194,25ml ± 83,3 u grupi proteina sa procentom manjim od 3,0%, 276,25ml ± 107,8, u grupi proteina sa procentom od 3,0% do 3,5%, i 217,0ml ± 71 u grupi proteina sa procentom višim od 3,6%. Razlike u prosečnom volumenu ejakulata između tri grupe proteina bile su statistički signifikantne (p=0,019).

Progresivna pokretljivost u proseku bila je najveća u grupi proteina sa procentom višim od 3,6 (74,0 ± 24), zatim u grupi proteina sa procentom od 3,0% do 3,6% (72, ± 15) i u grupi proteina sa procentom nižim od 3,0% (61,62 ± 20,4). Razlike između tri analizirane grupe proteina u odnosu na prosečnu progresivnu pokretljivost statistički bile su signifikantne (p=0,038).

Postojala je signifikantna razlika u korelaciji prosečne **koncentracije spermatozoida** i procentom proteina koji je bio niži od 3,0%, od 3% do 3,5%, i viši od 3,6% ($p=0,043$). Post hoc analiza pokazuje da je ova signifikantnost rezultat znatno niže koncentracije spermatozoida u grupi proteina sa procentom od 3% do 3,5%, u odnosu na grupu sa procentom proteina od 3,6% (264 ± 100 vs 418 ± 218 ; $p=0,023$).

Ukupan broj spermatozoida značajno se razlikuje između tri grupe proteina ($p=0,046$). Signifikantna je razlika između grupe proteina sa procentom od 3,0% do 3,5% i viši od 3,6% ($p=0,036$), kao rezultat znatno većeg broja spermatozoida u grupi proteina sa procentom većim od 3,6% (82 ± 29 vs 55 ± 24).

Tabela 43. Parametri ejakulata za sve tri kategorije prema procentualnoj zastupljenosti ukupnih proteina, analizirane kao kategorijski varijabilne.

Parametri	Proteini (%)	n	Sredna vrednost \pm SD	min - max
volumen na ejakulat(ml)	< 3	32	194,25 \pm 83,3	50 – 420
	3,0 – 3,5	8	276,25 \pm 107,8	100 – 390
	> 3,6	10	217,0 \pm 70,7	90 – 300
F=0,046 p=0,019 sig				
progresivna pokretljivost (%)	< 3	32	61,62 \pm 20,4	30 – 95
	3 – 3,5	8	71,62 \pm 14,7	43 – 90
	> 3,6	10	77,4 \pm 24,1	10 – 90
F=0,106 p=0,038 sig				
koncentracija $\times 10^6$	< 3	31	318 \pm 113	140 – 636
	3 – 3,5	8	264 \pm 100	140 – 636
	> 3,6	10	418 \pm 218	176 – 965
F=3,083 p=0,043 sig post hoc 3-3,5 vs >3,6 p=0,023 sig				
uk. br. spermatozoida $\times 10^9$	< 3	31	67 \pm 26	9,8 – 124
	3 – 3,5	8	55 \pm 24	22 – 78
	> 3,6	10	82 \pm 29	31 – 136
F=2,47 p=0,046 sig post hoc 3-3,5 vs >3,6 p=0,036 sig				

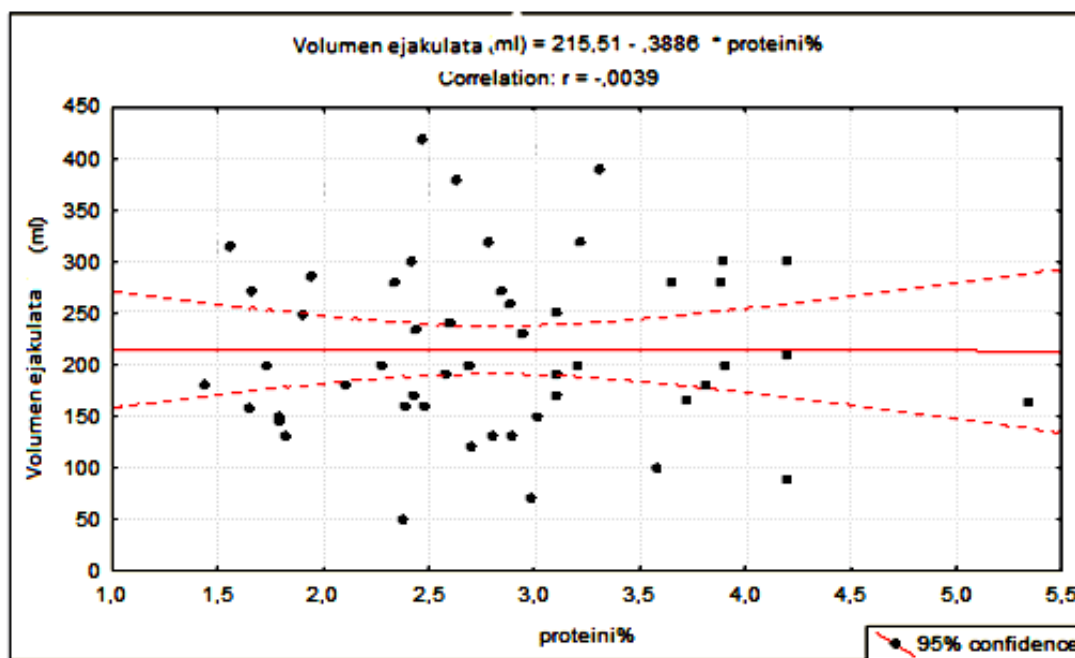
B. Utvrđivanje povezanosti - korelacije između procenta proteina u spermalnoj plazmi i parametara ejakulata

Tabela br. 44 i grafikoni 14, 15, 16 i 17 prikazuju povezanost - korelaciju procenta ukupnih proteina i ispitivanih parametara ejakulata. Rezultati korelacije ukupnih proteina i volumena ejakulata bila je negativna ($r = -0,0039$), a pozitivna sa progresivnom pokretljivošću ($r = 0,0988$), koncentracijom spermatozoida ($\times 10^6$), i ukupnim brojem spermatozoida ($r = 0,0129$).

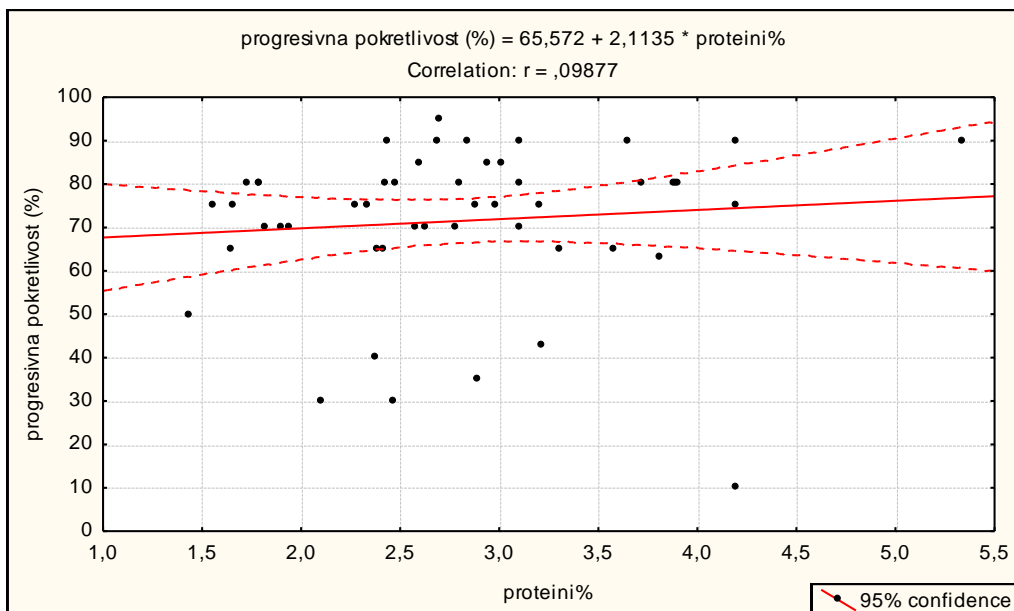
Statistička analiza nije potvrdila signifikantnost korelacije, odnosno povezanost procenta proteina u ejakulatu sa volumenom ejakulata ($p = 0,98$), progresivnom pokretljivošću spermatozoida ($p = 0,495$), koncentracijom spermatozoida ($p = 0,46$) i sa ukupnim brojem spermatozoida ($p = 0,93$).

Tabela 44. Povezanost - korelacija između procenta proteina u spermalnoj plazmi i parametara ejakulata

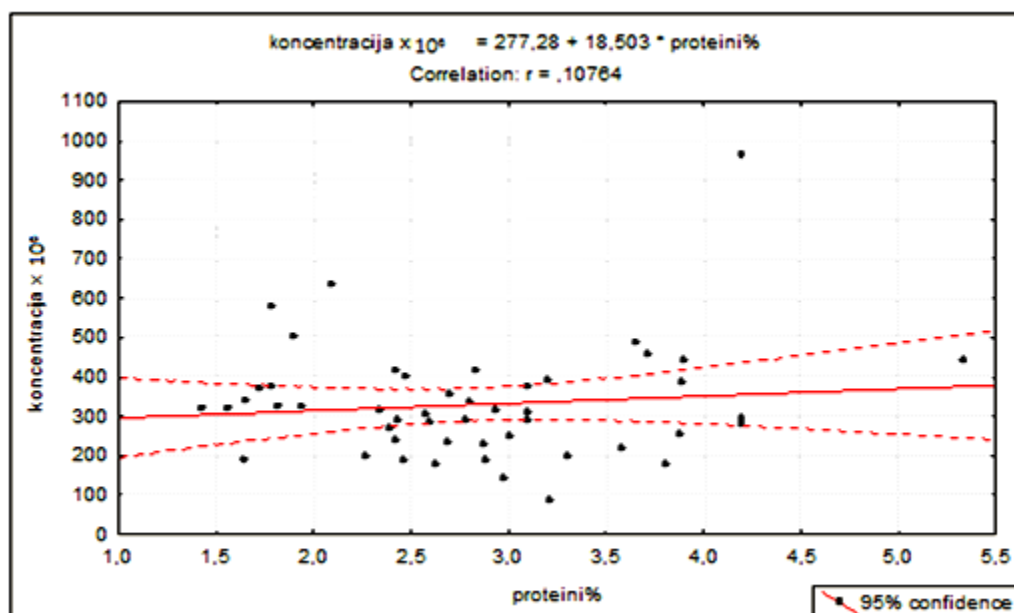
Koeficient proteina%	r (Pearson-ov koeficient linearne korelacije)	p value
volumen na ejakulat (ml)	$r = -0,0039$	$p = 0,98$
progresivna pokretljivost (%)	$r = 0,0988$	$p = 0,495$
koncentracija ($\times 10^6$)	$r = 0,1076$	$p = 0,46$
uk. br. spermatozoida ($\times 10^9$)	$r = 0,0129$	$p = 0,93$



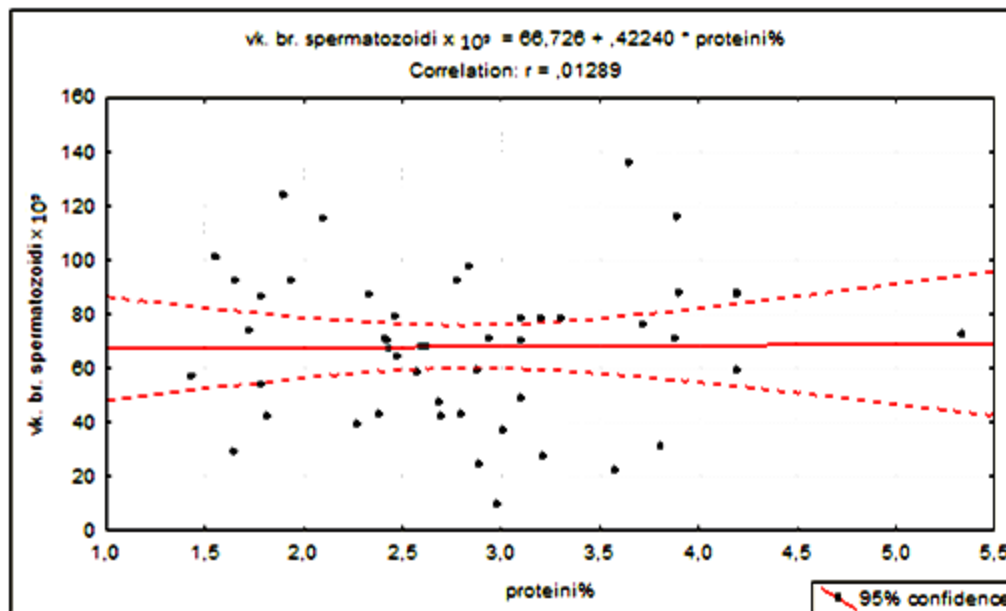
Grafikon br. 14. Korelacija između volumena ejakulata (ml) i procenta proteina u spermalnoj plazmi.



Grafikon br. 15. Korelacija između progresivne pokretljivosti (%) i procenta proteina u spermalnoj plazmi.



Grafikon br. 16. Korelacija između koncentracije spermatozoida ($\times 10^6$) i procenta proteina u spermalnoj plazmi.



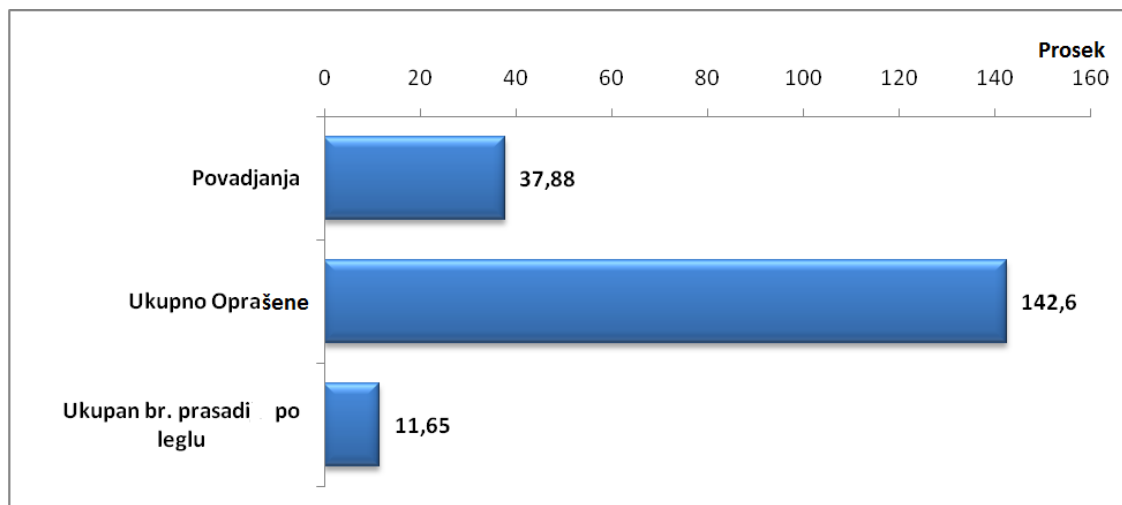
Grafikon br.17. Korelacija između ukupnog broja spermatozoida ($\times 10^9$) i procenta proteina u spermalnoj plazmi.

C. Uticaj sadržaja proteina u spermalnoj plazmi na povađanja, ukupan broj oprашenih krmača i na ukupan broj prasadi po leglu

U tabeli 45 i grafikonu 18, prikazani su deskriptivni parametri za povađanja, ukupan broj oprашenih krmača i ukupan broj prasadi po leglu. Broj povađanja ($37,88 \pm 23,6$) kreće se u intervalu od 3 do 118. Najmanji broj kod ukupno oprашenih je 2, a najveći broj je 473, a ukupno oprашenih majki u proseku iznosi $142,6 \pm 101,1$. Ukupan broj prasadi po leglu kreće se od 6 do 15, u proseku $11,65 \pm 1,5$ prasadi po leglu.

Tabela br. 45. Deskriptivni parametri za povađanja, ukupan broj oprашenih krmača i ukupan broj prasadi po leglu.

Parametri	N	Sredna vrednost \pm SD	min - max	Standardna greška
Povađanja	50	$37,88 \pm 23,6$	3 – 118	3,3
Ukupno oprашenih majki	50	$142,6 \pm 101,1$	2 – 473	14,3
Ukupan br. prasadi po leglu	50	$11,65 \pm 1,5$	8 – 15	0,21

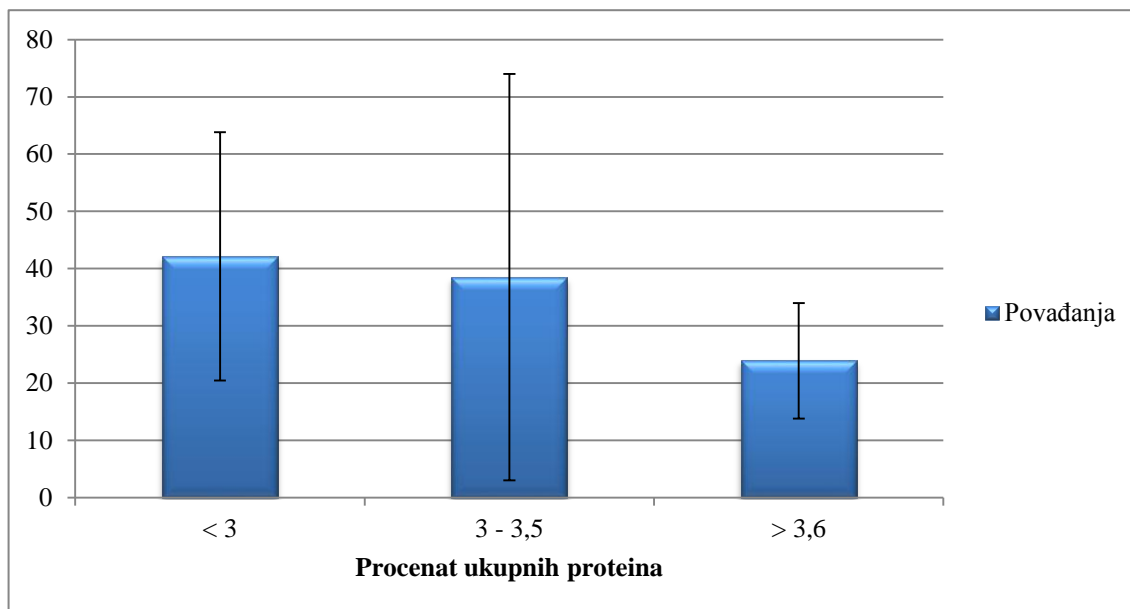


Grafikon br.18. Grafički prikaz povadjanja, ukupno oprašenih krmača i ukupan broj prasadi po leglu.

Analizom vrednosti prosečnog broja povadjanja majki, utvrđena je statistički signifikantna razlika između grupe nerastova sa procentom ukupnih proteina u ejakulatu većim od 3,6%, u odnosu na dobijene vrednosti prosečnog broja povadjanja kod krmača osemenjenih ejakulatom poreklom od nerestova sa ukupnim proteinima nižim od 3,0% u semenoj plazmi ($23,9 \pm 10,1$ vs $42,12 \pm 21,7$) ($p=0,032$), (tabela broj 46 i grafikon broj 19).

Tabela br.46. Vrednosti prosečnog broja povadjanja između različitih grupa procentualne zastupljenosti ukupnih proteina u ispitivanim ejakulatima

Proteini (%)	Povadjanja			
	N	Sredna vrednost \pm SD	min - max	p
< 3	32	$42,12 \pm 21,7$	6 – 118	<3 vs >3,6 $p=0.032$ sig
3 - 3,5	8	$38,5 \pm 35,5$	9 – 118	
> 3,6	10	$23,9 \pm 10,1$	3 – 60	

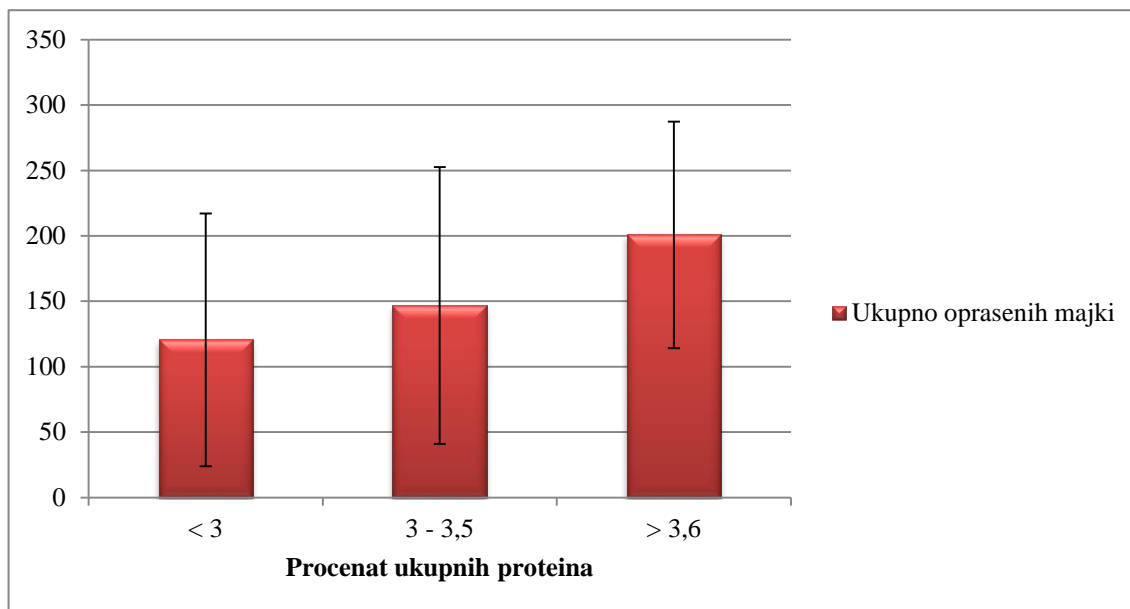


Grafikon br. 19. Vrednosti prosečnog broja povađanja kod grupa sa različitom procentualnom zastupljenosti ukupnih proteina u ispitivanim ejakulatima.

Prosečan broj ukupno oprашenih krmača je najniži u grupi nerastova gde je procenat ukupnih proteina u semenoj plazmi niži od 3% ($120,5 \pm 96,7$), dok je najveća vrednost oprашenih krmača utvrđena kod grupe sa najvećim procentom proteina u semenoj plazmi ($> 3,6\%$; $200,7 \pm 86,5$), s time da je razlika između ove dve grupe statistički signifikantna, $p=0,026$. (tabela broj 47 i grafikon broj 20).

Tabela 47. Vrednosti ukupno oprашenih majki kod grupa sa različitom procentualnom zastupljenosti proteina u ispitivanim ejakulatima.

Proteini %	Ukupna broj oprашenih krmača			
	N	Sredna vrednost \pm SD	min - max	p
< 3,0	32	$120,5 \pm 96,7$	2 – 473	<3 vs >3,6 $p=0,026$ sig
3 - 3,5	8	$146,87 \pm 105,8$	13 – 360	
> 3,6	10	$200,7 \pm 86,5$	34 – 287	

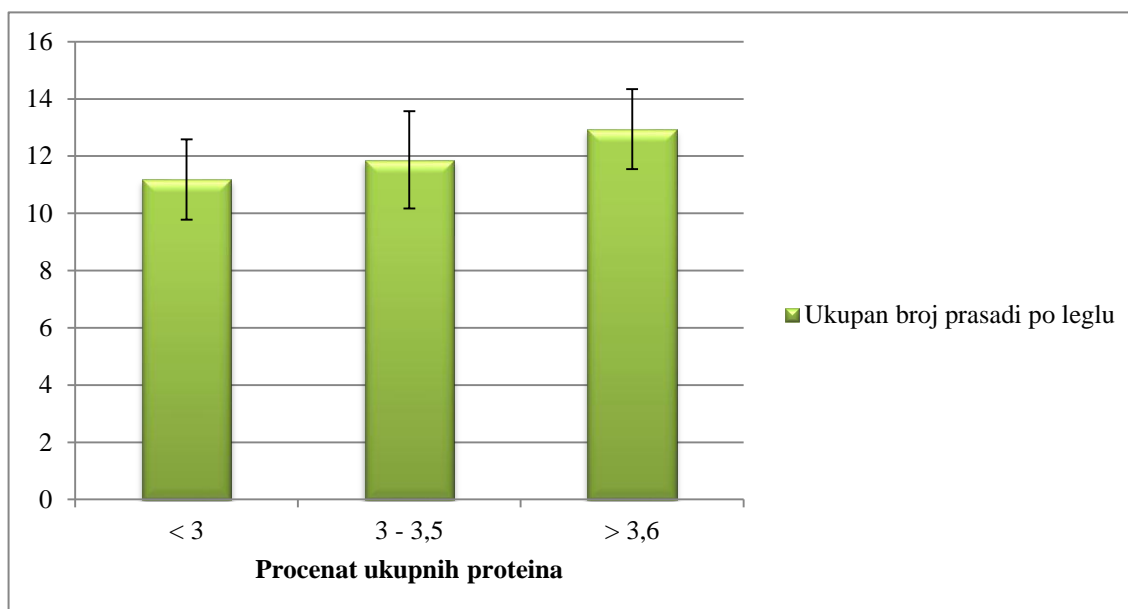


Grafikon br. 20. Vrednosti ukupno oprasenih majki kod grupa sa različitom procentualnom zastupljenosti ukupnih proteina u ispitivanim ejakulatima.

Statistički signifikantna razlika u vrednosti rezultata koji se odnose na broj prasadi po leglu dobijenih osemenjivanjem krmača ejakulatom različitog procenta zastupljenosti proteina utvrđena je između grupa nerastova sa ukupnim procentom proteina manjim od 3,0% i nerastova sa ukupnim procentom proteina većim od 3,6% u semenoj plazmi ($11,18 \pm 1,4$ vs $12,94 \pm 1,4$; $p=0,0018$), (tabela broj 48 i grafikon broj 21).

Tabela 48. Vrednosti ukupnog broja prasadi po leglu kod grupa sa različitom procentualnom zastupljenosti ukupnih proteina u ispitivanim ejakulatima.

Proteini %	Ukupan br. prasadi po leglu			
	N	Sredna vrednost \pm SD	min - max	p
< 3,0	32	$11,18 \pm 1,4$	8,32 – 13,68	<3 vs >3,6 $p=0.0018$ sig
3,0 - 3,5	8	$11,87 \pm 1,7$	9,31 – 13,76	
> 3,6	10	$12,94 \pm 1,4$	10,77 – 15,21	

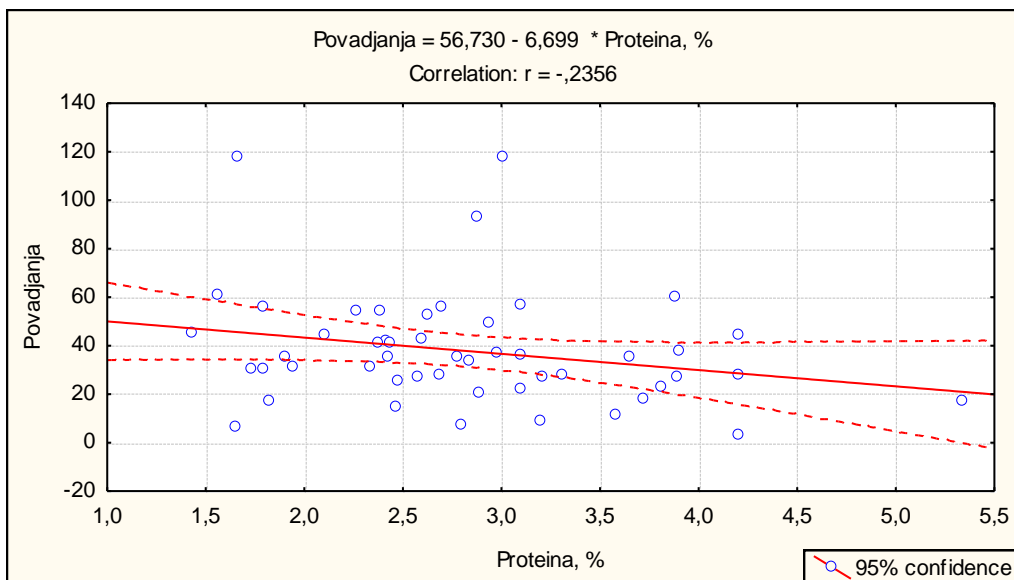


Grafikon br. 21. Vrednosti ukupnog broja prasadi po leglu kod grupa sa različitom procentualnom zastupljenosti ukupnih proteina u ispitivanim ejakulatima.

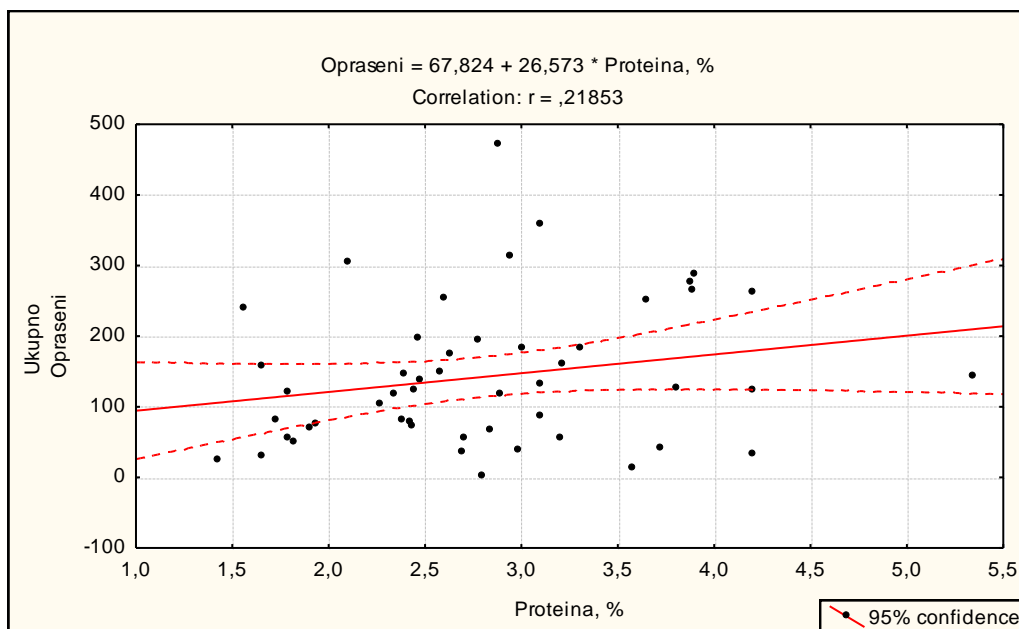
Rezultati prikazani u tabeli 49 i grafikonima 22, 23 i 24, prikazuju da broj povadjanja nesignifikantno korelira sa procentom ukupnih proteina u ejakulatu ($p = 0,1$). Nesignifikantna korelacija postoji i između broja ukupno oprašanih i procenta ukupnih proteina u ejakulatu ($p = 0,127$). Korelacija, odnosno povezanost između broja prasadi po leglu i procenta ukupnih proteina u ejakulatu je statistički signifikantna za $p = 0,003$.

Tabela 49. Povezanost - korelacija između procenta ukupnih proteina u spermalnoj plazmi i povadjanja, ukupno oprašanih krmača i ukupan broj prasadi po leglu.

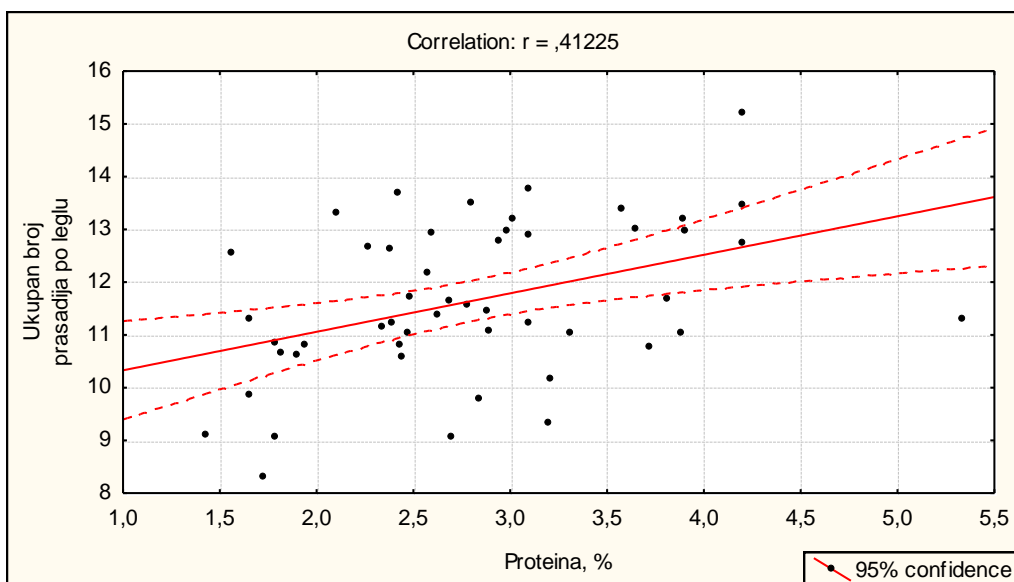
Korelacija proteina, (%)	r (Pearson-ov koeficijent linearne korelacije)	p value
Povadjanja	$r = -0.2356$	$p = 0.1$
Ukupno oprašanih majki	$r = 0.2185$	$p = 0.127$
Ukupan broj prasadi po leglu	$r = 0.4123$	$p = 0.003 \text{ sig}$



Grafikon br.22. Povezanost - korelacija između procenta ukupnih proteina u spermalnoj plazmi i povadjanja.



Grafikon br. 23. Povezanost - korelacija između procenta ukupnih proteina u spermalnoj plazmi ukupno oprašenih krmača.



Grafikon br. 24. Povezanost - korelacija između procenta ukupnih proteina u spermalnoj plazmi i ukupan broj prasadi po leglu.

5.2.5. Peti eksperiment

Uticao različite procentualne zastupljenosti proteina različite molekulske mase na parametre - progresivna pokretljivost, ukupan broj oprušenih krmača, procenat povadjanja i ukupan broj prasadi po leglu

A. Uticaj različite procentualne zastupljenosti proteina molekulske mase od 10-20kDa

U tabeli br. 50 i grafikonu br. 25 prikazani su rezultati progresivne pokretljivosti spermatozoida u ejakulatu, procenat povadjanja, ukupan broj oprušenih krmača i ukupan broj prasadi po leglu, izmerene kod nerastova sa različitim procentualnom zastupljenosti proteina molekulske mase od 10-20 kDa.

U grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 31% do 40%, izmerena progresivna pokretljivost u proseku je iznosila od $71,66\% \pm 15,85$. Najveća progresivna pokretljivost u proseku je bila u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 21% do 30% ($72,17 \pm 21,14$), a najniža u grupi narastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 10% do 20% ($69,37 \pm 9,42$). Rezultati istraživanja pokazali su nesigifikantno

različite vrednosti progresivne pokretljivosti spermatozoida između tri analizirane grupe nerastova.

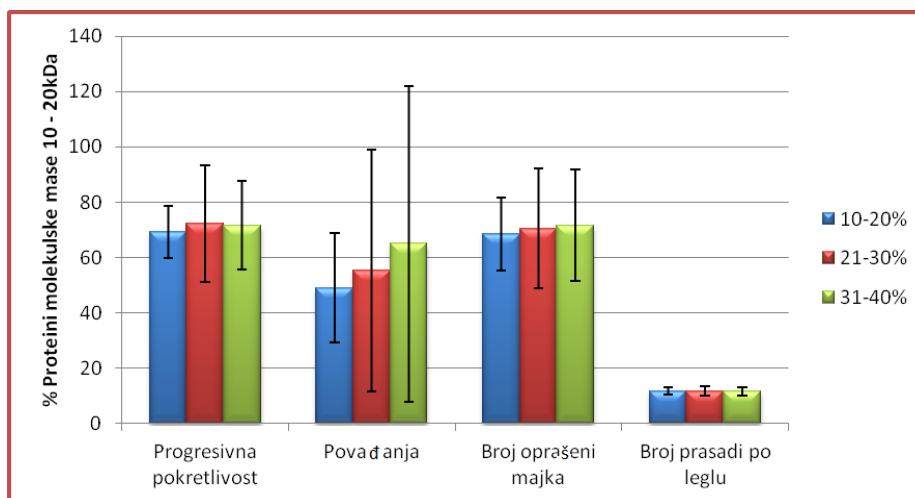
Procenat povađanja, u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina molekulske mase od 10 do 20kDa od 21% do 30%, iznosi $55,32\% \pm 43,61$. Najveći procent povađanja u proseku, izmeren je u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 31% do 40 % ($64,91\% \pm 56,96$), a najniža prosečna vrednost povađanja bila je u grupi narastova sa procentualnom zastupljenost proteina od 10% do 20% ($49,00\% \pm 19,69$). Razlika procenata povađanja nije bila signifikantno različita između tri analizirane grupe nerastova.

U grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 21% do 30% u proseku dobijen je $70,55 \pm 21,77$ broj oprušenih majki. Maksimalan broj oprušenih krmača bio je u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 31% do 40% ($71,66 \pm 20,18$), a najmanji broj oprušenih krmača bio je u grupi narastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 10% do 20% ($68,35 \pm 13,16$). Broj oprušenih majki nije bio signifikantno različit između analiziranih grupa nerastova.

U grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 21% do 30% u proseku je bilo $11,69 \pm 1,75$ prasadi po leglu. Najveći broj prasadi bio je u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 10% do 20% ($11,71 \pm 1,40$), a najmanji broj prasadi u grupi narastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 31% do 40% ($11,62 \pm 1,35$). Rezultati istraživanja pokazali su nesignifikantno različite vrednosti broja prasadi po leglu između tri analizirane grupe nerastova.

Tabela br. 50. Rezultati progresivne pokretljivosti spermatozoida (%), procenat povađanja(%), ukupan broj oprušenih majki i broj prasadi po leglu, izmerene kod nerastova različite procentualne zastupljenosti proteina (10% -20%, 21% - 30%, 31% – 40%) molekulse mase od 10-20 kDa.

N	10-20%	21-30%	31-40%	p
	8	28	12	
	Sredna vrednost \pm SD	Sredna vrednost \pm SD	Sredna vrednost \pm SD	
Progresivna pokretljivost (%)	$69,37 \pm 9,42$	$72,17 \pm 21,14$	$71,66 \pm 15,85$	$p > 0,05$ (NS)
Povađanja (%)	$49,00 \pm 19,69$	$55,32 \pm 43,61$	$64,91 \pm 56,96$	$p > 0,05$ (NS)
Broj oprušeni majka	$68,35 \pm 13,16$	$70,55 \pm 21,77$	$71,66 \pm 20,18$	$p > 0,05$ (NS)
Broj prasadi po leglu	$11,71 \pm 1,40$	$11,69 \pm 1,75$	$11,62 \pm 1,35$	$p > 0,05$ (NS)



Grafikon br. 25. Rezultati progresivne pokretljivosti spermatozoida (%), procenat povađanja (%), ukupan broj oprášenih krmača i broj prasadi po leglu, izmerene kod nerestova različite procentualne zastupljenosti proteina (10% - 20%, 21% - 30%, 31% - 40%) molekulse mase od 10-20 kDa. NS ; *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$.

B. Uticaj različite procentualne zastupljenosti proteina molekulske mase od 21 - 30kDa

U tabeli br. 51 i grafikonu br. 26 prikazani su rezultati progresivne pokretljivosti spermatozoida u ejakulatu, procenat povađanja, ukupan broj oprášenih krmača i ukupan broj prasadi po leglu, izmerene kod nerestova različite procentualne zastupljenosti proteina molekulse mase od 21-30 kDa.

U grupi nerastova procentualne zastupljenosti proteina od 10% do 20% prosečna progresivna pokretljivost iznosila je $77,50\% \pm 10,40$, zatim u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 51 do 60% prosečna progresivna pokretljivost iznosila je ($68,52\% \pm 15,58$), dok je u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 71 do 80% prosečna progresivna pokretljivost iznosila ($77,50\% \pm 6,45$). U grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 41% do 50% u proseku je izmerena progresivna pokretljivost od ($73,12\% \pm 17,10$), najveća progresivna pokretljivost u prosek izmerena je u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 21% do 40% ($80\% \pm 12,74$), a

najniža u grupi narastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 61% do 70% ($67,16\% \pm 25,99$). Rezultati istraživanja pokazali su nesignifikantno različite vrednosti progresivne pokretljivosti spermatozoida između šest analiziranih grupa nerastova.

U grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 21% do 40% u proseku utvrđeno je $39,60\% \pm 18,95$ procenata povađanja. Grupa nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 41% do 50% imala je procenat povađanja od $29,25\% \pm 18,59$, dok je grupa nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 51% do 60%, imala procenat povađanja $36,29\% \pm 21,49$. Kod nerastova u grupi sa procentualnom zastupljenosti proteina od 61% do 70%, vrednost procenta povađanja iznosila je $32,00\% \pm 25,53$. Maksimalna vrednost procenta povađanja ($43,75\% \pm 15,52$) utvrđena je u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 10% do 20%, dok je najniža bila u grupi narastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 61% do 70% ($18,25\% \pm 8,53$). Rezultati istraživanja pokazali su da postoji statistički značajna razlika između grupa sa procentualnom zastupljenosti proteina od 10% do 20% i grupe sa procentualnom zastupljenosti proteina od 71% do 80% ($p=0,043$).

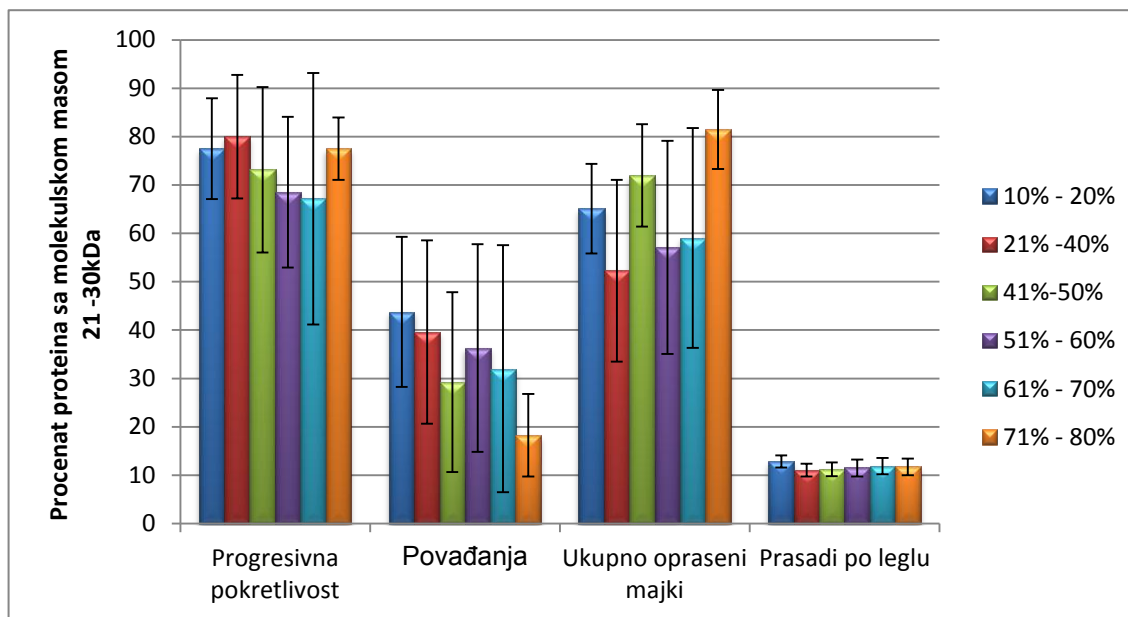
Broj oprušenih krmača u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 10% do 20% u proseku je iznosio $65,11 \pm 9,28$. U grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 41% do 50% u proseku su se oprasile $72,00 \pm 10,57$ majki, a u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 51% do 60% u proseku oprasile su se ($57,12 \pm 22,04$). Grupa nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 61% do 70% u proseku je imala $59,03 \pm 22,72$ oprušenih majki. Najveći broj oprušenih majki, u proseku, utvrđen je u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 71% do 80% ($81,48 \pm 8,20$), a najmanji broj u grupi narastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 10% do 20% ($52,26 \pm 18,81$). Signifikantna razlika u broju oprušenih krmača utvrđen je između grupa nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina 21% - 40% i 71% - 80% ($p=0,028$), 51% - 60% i grupe 71% - 80% ($p=0,027$), takođe su rezultati pokazali da postoji signifikantna razlika i između grupa 61% do 70% i 71% - 80% ($p=0,048$).

Analizom ukupnog broja oprušenih prasadi po leglu utvrđeno je da u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 41% do 50% u proseku je bilo $11,22 \pm 1,40$ prasadi po leglu. U grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 51% do 60% bilo je $11,51 \pm 1,75$ prasadi po leglu, dok je broj prasadi po leglu u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 61% do 70% iznosio $11,89 \pm 1,71$. Kod nerastova sa procentualnom

zastupljenosti proteina od 71% do 80% oprашenih majki, oprasile su $11,72 \pm 1,75$ prasadi po leglu. Najveći broj prasadi po leglu bio je kod grupe nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 10% do 20% ($12,85 \pm 1,26$), a najmanji broj prasadi u grupi narastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 21% do 40% ($11,08 \pm 1,33$). Broj oprашenih prasadi po leglu se nije signifikantno razlikovao između svih šest ispitivanih grupa nerastova.

Tabela br.51. Rezultati progresivne pokretljivosti spermatozoida (%), procenat povadanja (%), ukupan broj oprашenih krmača i broj prasadi po leglu, izmerene kod nerastova različite procentualne zastupljenosti proteina (10% -20%, 21% - 40%, 41% - 50%, 51% - 60%, 61% - 70% i 71% - 80%) molekule mase od 21-30 kDa.

% proteina molekulske mase od 21-30 kDa.	10-20%	21-40%	41-50%	51-60%	61-70%	71-80%	p
N	4	5	8	17	12	4	
	Sredna vrednost \pm SD	Sredna vrednost \pm SD	Sredna vrednost \pm SD	Sredna vrednost \pm SD	Sredna vrednost \pm SD	Sredna vrednost \pm SD	
Progresivna pokretljivost (%)	$77,50 \pm 10,408$	$80,00 \pm 12,747$	$73,12 \pm 17,100$	$68,52 \pm 15,588$	$67,16 \pm 25,992$	$77,50 \pm 6,454$	P<0,05 (NS)
Povadanja (%)	$43,75 \pm 15,52$	$39,60 \pm 18,95$	$29,25 \pm 18,59$	$36,29 \pm 21,49$	$32,00 \pm 25,53$	$18,25 \pm 8,53$	P<0,05 (1-6 p-0,043)
Broj oprашenih krmača	$65,11 \pm 9,28$	$52,26 \pm 18,81$	$72,00 \pm 10,57$	$57,12 \pm 22,04$	$59,03 \pm 22,72$	$81,48 \pm 8,20$	P<0,05 (2-6 p-0,028; 4-6 p-0,028; 5-6 p-0,048;)
Broj prasadi po leglu	$12,85 \pm 1,26$	$11,08 \pm 1,33$	$11,22 \pm 1,40$	$11,51 \pm 1,75$	$11,89 \pm 1,71$	$11,72 \pm 1,75$	P<0,05 (NS)



Grafikon br.26. Rezultati progresivne pokretljivosti spermatozoida (%), procenat povađanja (%), ukupan broj oprasenih krmača i ukupan broj prasadi po leglu, izmerene kod nerestova različite procentualne zastupljenosti proteina (10% -20%, 21% - 40%, 41% – 50%, 51% - 60%, 61% - 70% i 71% - 80%) molekulske mase od 21-30 kDa. NS ; *** p< 0.001; ** p< 0.01; *p< 0.05

C.Uticaj različite procentualne zastupljenosti proteina molekulske mase od 31-40kDa

U tabeli br. 52 i grafikon br. 27 prikazani su rezultati progresivne pokretljivosti spermatozoida u ejakulatu, procenat povađanja, ukupan broj oprasenih krmača i ukupan broj prasadi po leglu, izmerene kod nerestova sa različitom procentualnom zastupljenosti proteina molekulske mase od 31 do 40kDa.

U grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 21% do 30% u proseku je bila izmerena progresivna pokretljivost spermatozoida od $73,33\% \pm 16,20$, dok je prosečna progresivna pokretljivost u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 11% do 20% iznosila $75,00\% \pm 15,98$. Maksimalna progresivna pokretljivost u proseku bila je izmerena u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 31% do 70% ($75,83\% \pm 9,70$), a minimalna u grupi narastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 1% do 10% ($68,44\% \pm 20,55$). Rezultati istraživanja pokazali su nesigifikantno različite vrednosti progresivne pokretljivosti spermatozoida između sve četiri analizirane grupe nerastova.

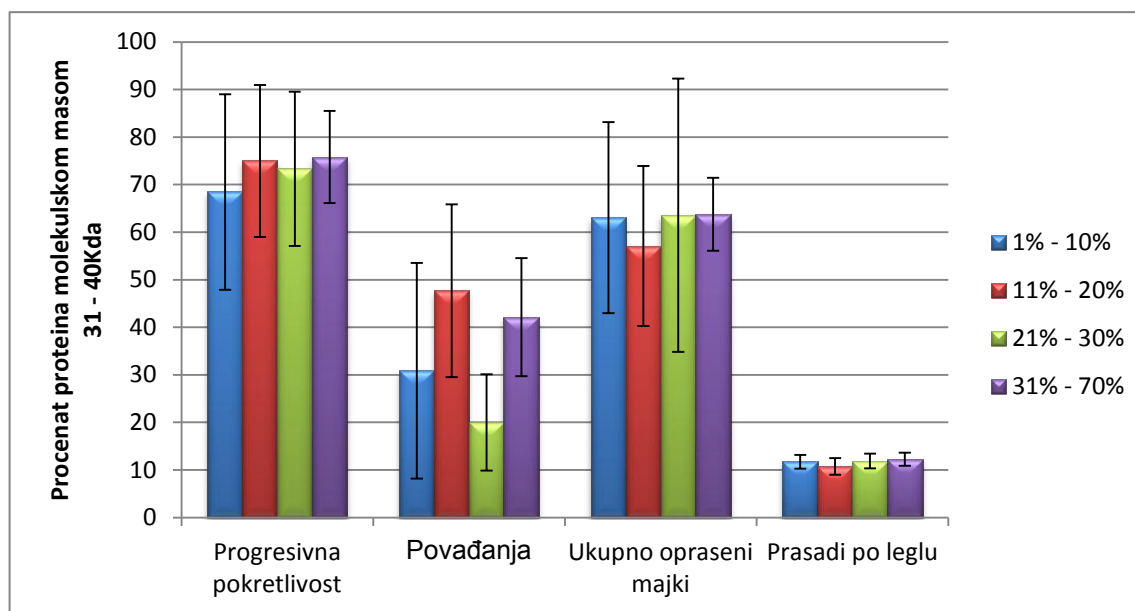
Broj povadañja u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 1% do 10% u proseku je iznosio $30,84\% \pm 22,68$, dok je u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 31% do 70%, utvrđeno $42,16 \pm 12,41$ procenta povadañja. Najveći procent povadañja u proseku je bio u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 11% do 20% ($47,70\% \pm 18,16$), a najniži procenat u grupi narastova sa 21% do 30% ($20,00\% \pm 10,13$). Rezultati istraživanja pokazali su da postoji veća statistička značajnost između grupe sa procentualnom zastupljenosti proteina od 11% do 20% i grupe od 21% do 30% ($p = 0,003$), dok je između grupe sa procentualnom zastupljenosti proteina od 1% do 10% i grupe od 11% do 20% ($p = 0,023$), kako i između grupe sa procentualnom zastupljenosti proteina od 21% do 30% i grupe od 31% do 70% ($p=0,033$) bila slabija statistička značajnost.

Broj opraañenih krmaća osemenjenih ejakulatom nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 1% do 10% u proseku je bio $63,07 \pm 20,09$, dok je broj opraañenih majki u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 21% do 30% bio $63,58 \pm 28,73$. Maksimalan broj prašnja ($63,78 \pm 7,65$) utvrđen je kod krmaća osemenjivanih ejakulatom procentualne zastupljenosti proteina od 31%-70%, dok je minimalan broj ($57,13 \pm 16,83$) bio kod grupe sa procentualnom zastupljenosti proteina od 11% – 20%. Broj krmaća koje su se oprasile nije se razlikovao značajno između sve četiri analizirane grupe.

Analizom broja ukupno opraañenih prasadi po leglu, utvrđeno je da u grupi nerastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 1% do 10% u proseku bilo $11,75 \pm 1,45$ prasadi po leglu. U grupi nerestova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 21% do 30% bilo je $11,90 \pm 1,57$ prasadi po leglu. Najveći broj prasadi po leglu bio je kod grupe nerestova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 31% do 70% ($12,24 \pm 1,37$), a najmanji broj prasadi u grupi narastova sa procentualnom zastupljenosti proteina od 11% do 20% ($10,75 \pm 1,76$). Ukupan broj opraañenih prasadi po leglu se nije signifikantno razlikovao između sve četiri ispitivane grupe nerestova.

Tabela br. 52. Rezultati progresivne pokretljivosti spermatozoida (%), procenat povađanja(%), ukupan broj oprашenih krmača i broj prasadi po leglu, izmerene kod nerestova sa različitim procentualnom zastupljenosti proteina (1% - 10%, 11% - 20%, 21% - 30% i 31% - 70%) molekule mase od 31-40 kDa.

N	1-10%	11-20%	21-30%	31-70%	P
	25	10	9	6	
	Sredna vrednost ± SD	Sredna vrednost ± SD	Sredna vrednost ± SD	Sredna vrednost ± SD	
Progresivna pokretljivost	68,44±20,55	75,00±15,98	73,33±16,20	75,83±9,70	P<0,05(NS)
Povađanja	30,84±22,68	47,70±18,16	20,00±10,13	42,16±12,41	P<0,05 (1-2 p-0,023; 2-3 p-0,003; 3-4 p-0,033;)
Broj oprашenih krmača	63,07±20,09	57,13±16,83	63,58±28,73	63,78±7,65	P<0,05(NS)
Broj prasadi po leglu	11,75±1,45	10,75±1,76	11,90±1,57	12,24±1,37	P<0,05(NS)



Grafikon br. 27. Rezultati progresivne pokretljivosti spermatozoida (%), procenat povađanja (%), ukupan broj oprашenih majki i broj prasadi po leglu, izmerene kod nerestova sa različitim procentualnom zastupljenosti proteina (1% - 10%, 11% - 20%, 21% - 30% i 31% - 70%) molekule mase od 31-40 kDa.

5.2.6. Šesti eksperiment

Povezanost – korelacija između procentualne zastupljenosti proteina različite molekulske mase i progresivne pokretljivosti, povađanja i ukupnog broj prasadi po leglu

Rezultati prikazani u tabeli br. 53, pokazuju da je grupa proteina sa molekulskom masom od 21 – 30 kDa procentualno najviše zastupljena u odnosu na ostale grupe, dok je grupa proteina od 41 – 50 kDa sa najnižom procentualnom zastupljenosti proteina u semenoj plazmi ispitivanih nerastova.

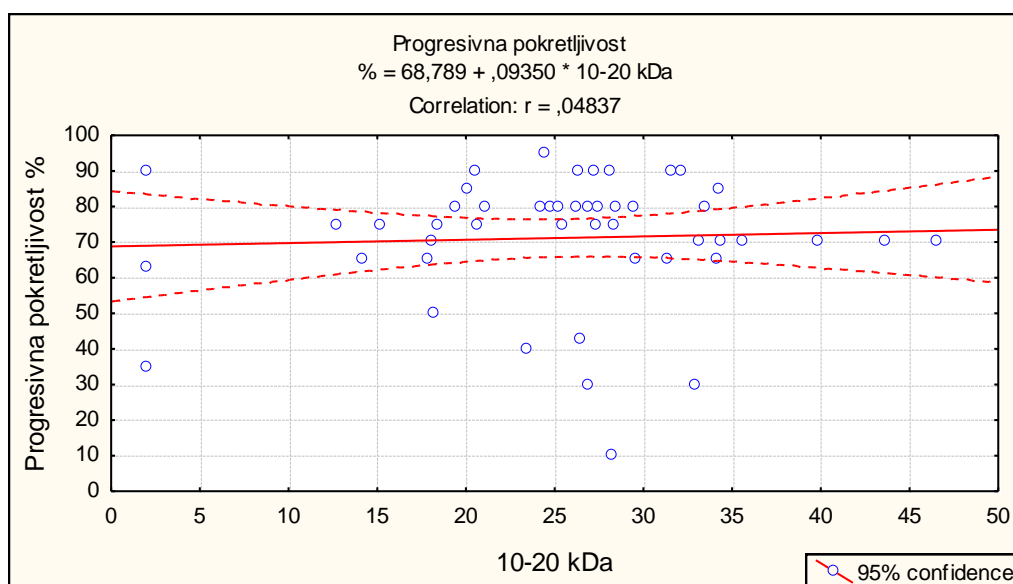
Tabela br.53. Procenat zastupljenosti proteina određene molekulske mase po rasama

Rasa Sredna vrednost ± SD	Molekulska masa proteina (% Ukupno)				
	10-20	21-30	31-40	41-50	51>
Jokšir	25,12±4,7	51,03±16,3	18,67±16,3	2,29±2,1	3,18±2,8
Landras	28,92±9,1	58,12±10,9	9,83±14,1	3,27±4,9	2,52±2,5
Durok	28,1±7,5	45 ±19,8	18,63±21,4	3,35±5,2	4,47±2,8
Drugo	28,4 ± 7,2	48,45 ± 3,0	21,15 ± 5,3	-	2,0 ± 1,1

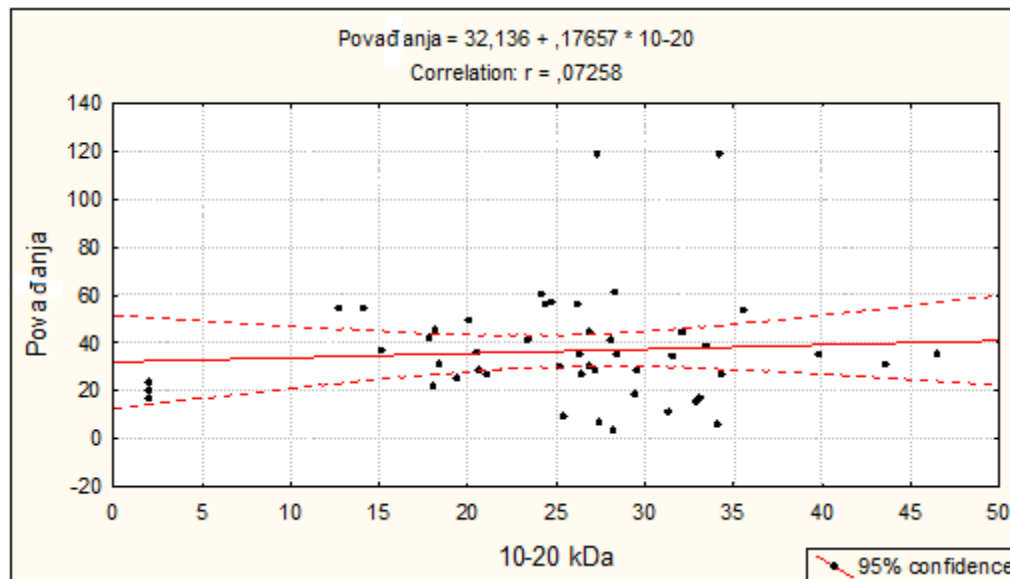
U tabeli br. 54 grafikonima br. 28, 29 i 30, prikazana je vrednost korelacije između procenata zastupljenosti proteina molekulske mase od 10 do 20 kDa i vrednost progresivne pokretljivosti spermatozoida, prosečan broj povađanja i ukupan broj prasadi po leglu. U grupi proteina molekulske mase od 10 do 20 kDa, procenat zastupljenosti ove kategorije proteina je u pozitivnoj korelaciji sa progresivnom pokretljivošću spermatozoida ($r = 0.048$) i povađanjem ($r = 0.073$), dok je u negativnoj korelaciji sa ukupnim brojem prasadi po leglu ($r = - 0.071$). Međutim, sve tri statističke korelacije potvrdile su se kao statistički nesignifikantne ($p = 0,74$, $p = 0,62$, $p = 0,63$ konsekvntno).

Tabela 54. Povezanost - korelacija i statistička značajnost korelacije između procenta zastupljenosti proteina molekulske mase od 10 do 20 kDa i vrednost progresivne pokretljivosti spermatozoida, prosečan broj povađanja i ukupan broj prasadi po leglu.

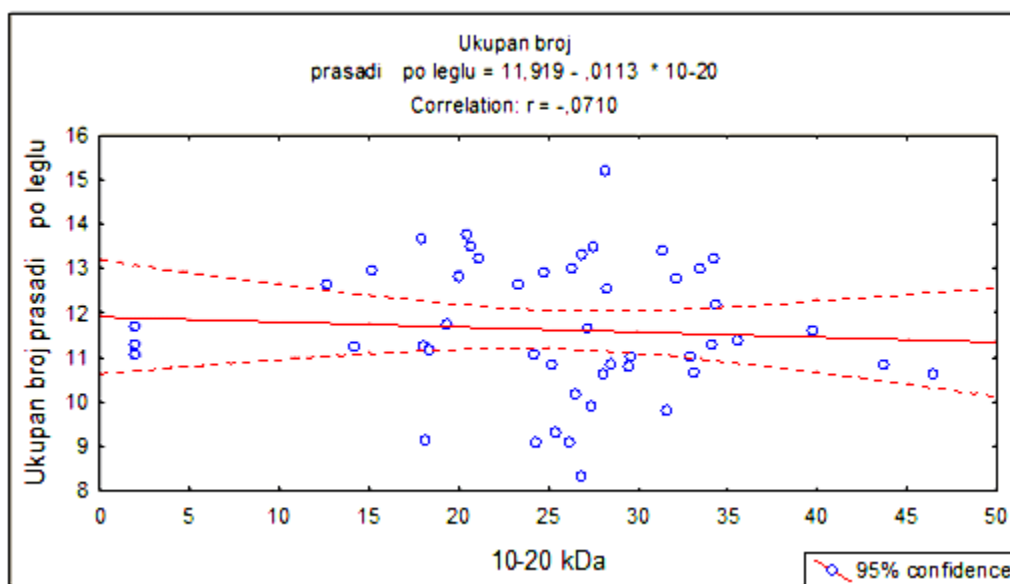
Korelacija Molekulska masa (10-20) proteina, %	r (Pearson- ov koeficijent linearne korelacije)	p value
Progressivna pokretljivost	r = 0.048	p = 0.74
Povađanja	r = 0.073	p = 0.62
Ukupan br. prasadi po leglu	r = - 0.071	p = 0.63



Grafikon br. 28. Povezanost - korelacija između progresivne pokretljivosti (%) i proteina od 10-20 kDa u spermalnoj plazmi.



Grafikon br. 29. Povezanost - korelacija između povađanja i proteina od 10-20 kDa u spermalnoj plazmi.



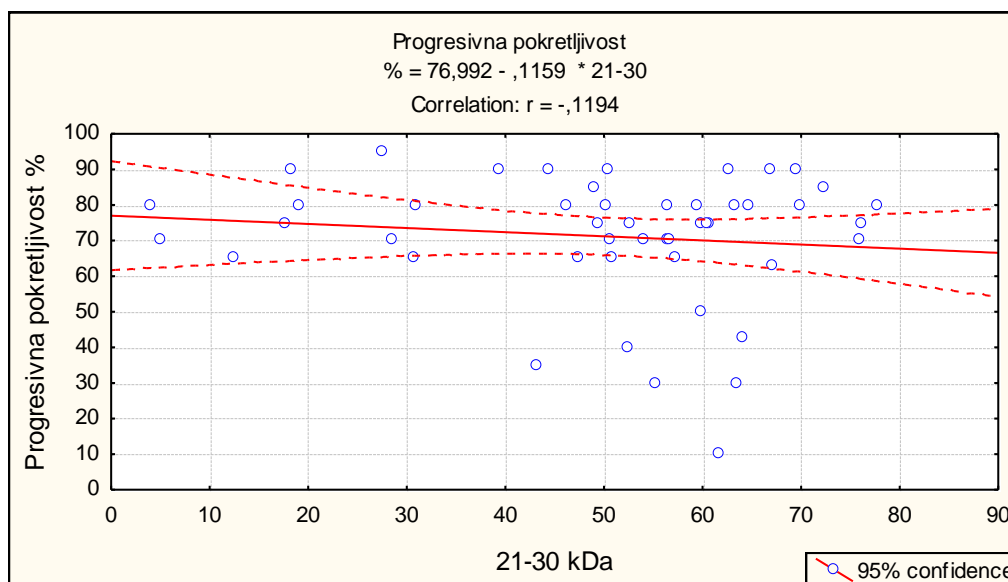
Grafikon br. 30. Povezanost - korelacija između ukupnog broja prasadi po leglu i proteina od 10-20 kDa u spermalnoj plazmi.

U tabeli br. 55 i grafikonima br. 31, 32 i 33 prikazana je vrednost korelacije između procenata zastupljenosti proteina molekulske mase od 21 do 30 kDa i vrednost progresivne pokretljivosti spermatozoida, prosečan broj povađanja i ukupan broj prasadi po leglu. U grupi proteina sa molekularnom masom od 21 do 30 kDa, procenat proteina negativno je korelirao sa

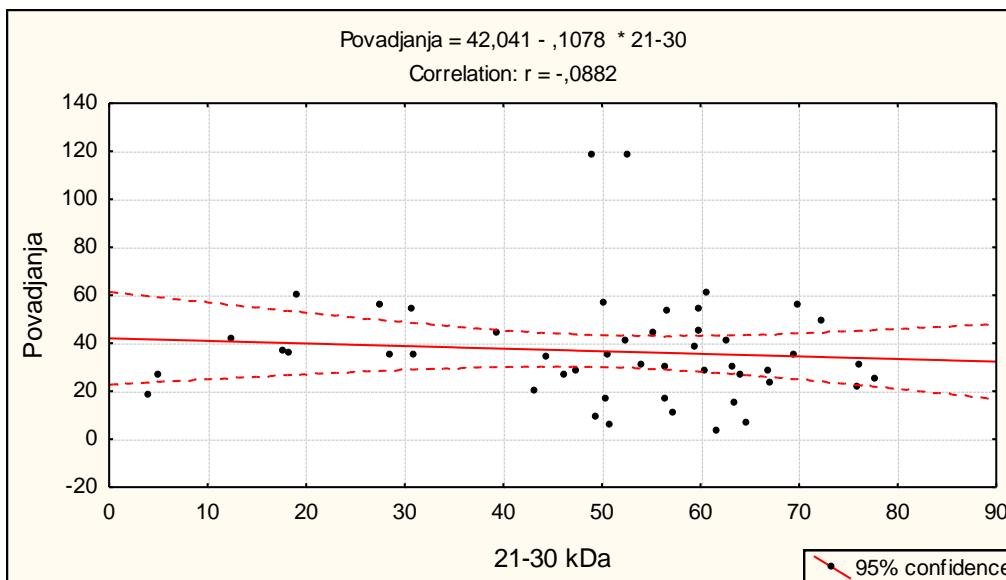
progresivnom pokretljivošću spermatozoida ($r = -0.119$), sa brojem povađanja ($r = -0.088$), i sa ukupnim brojem prasadi po leglu ($r = -0.049$). Takođe, i kod ove grupe proteina sve tri statističke korelacije potvrdile su se kao statistički nesignifikantne ($p = 0,42$, $p = 0,55$, $p = 0,74$ konsekventno).

Tabela 55. Povezanost - korelacija i statistička značajnost korelacije između procenata zastupljenosti proteina molekulske mase od 21 do 30 kDa i vrednosti progresivne pokretljivosti spermatozoida, prosečan broj povađanja i ukupan broj prasadi po leglu.

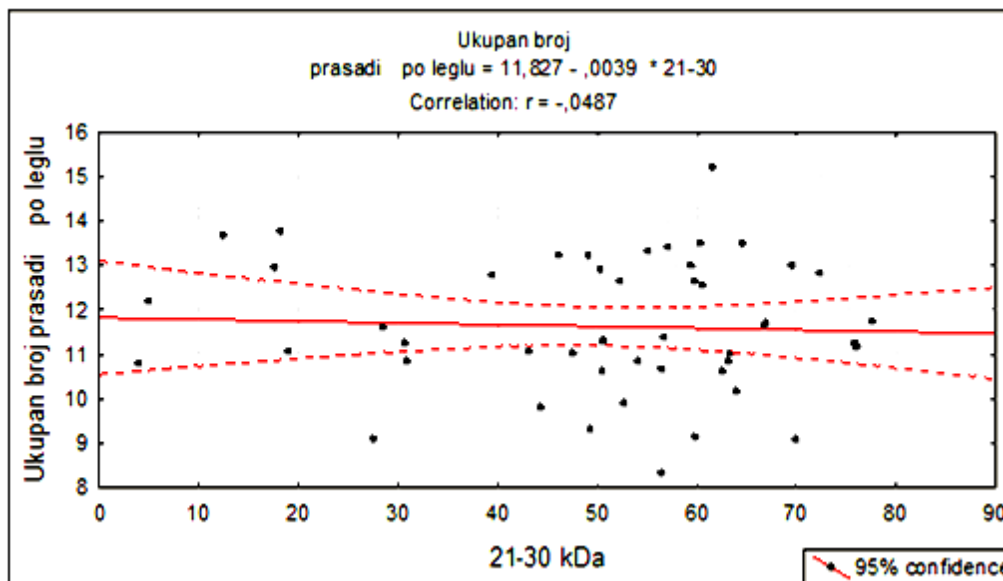
Korelacija Molekulska masa (21 – 30) Proteina, %	r (Pearson-ov koeficijent na linearna korelacija	p value
Progresivna pokretljivost	$r = -0.119$	$p = 0,42$
Povađanja	$r = -0.088$	$p = 0,55$
Ukupan br. prasadi po leglu	$r = -0.049$	$p = 0,74$



Grafikon br.31. Povezanost - korelacija između progresivne pokretljivosti (%) i proteina od 21-30 kDa u spermalnoj plazmi.



Grafikon br.32. Povezanost - korelacija između povadjanja i proteina od 21-30 kDa u spermalnoj plazmi.



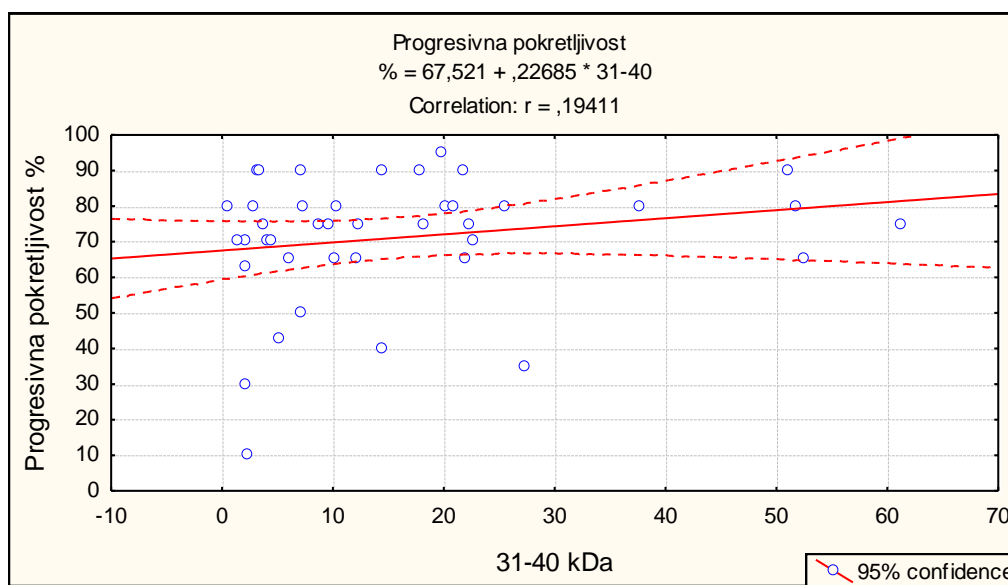
Grafikon br.33. Povezanost - korelacija između ukupnog broja prasadi po leglu i proteina od 21-30 kDa u spermalnoj plazmi.

U tabeli br 56 i grafikonima br. 34, 35 i 36, prikazana je vrednost korelacije između procenata zastupljenosti proteina molekulske mase od 31 do 40 kDa i vrednosti progresivne pokretljivosti spermatozoida, prosečan broj povadjanja i ukupan broj prasadi po leglu. U grupi proteina molekulske mase od 31 do 40 kDa, procenat proteina je u pozitivnoj korelaciji sa progresivnom pokretljivošću spermatozoida ($r = 0.194$), brojem povadjanja ($r = 0.278$) i

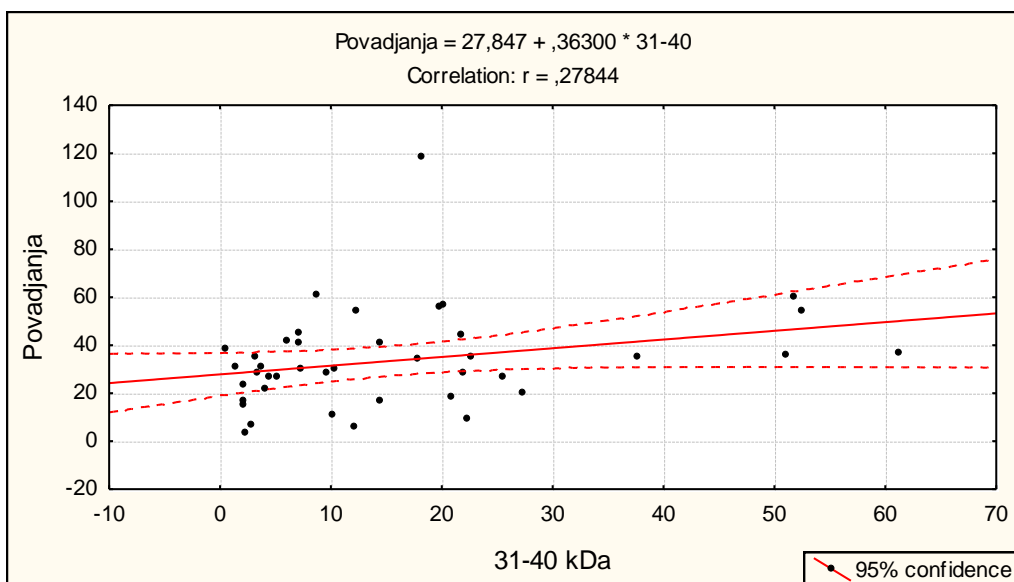
ukupnim brojem prasadi po leglu ($r = 0.008$). Sve tri statističke korelacije potvrdile su se kao statistički nesigifikantne ($p = 0,22$, $p = 0,078$, $p = 0,96$ konsekventno).

Tabela br. 56. Povezanost - korelacija i statistička značajnost korelacije između procenata zastupljenosti proteina molekulske mase od 31 do 40 kDa i vrednosti progresivne pokretljivosti spermatozoida, prosečan broj povađanja i ukupan broj prasadi po leglu.

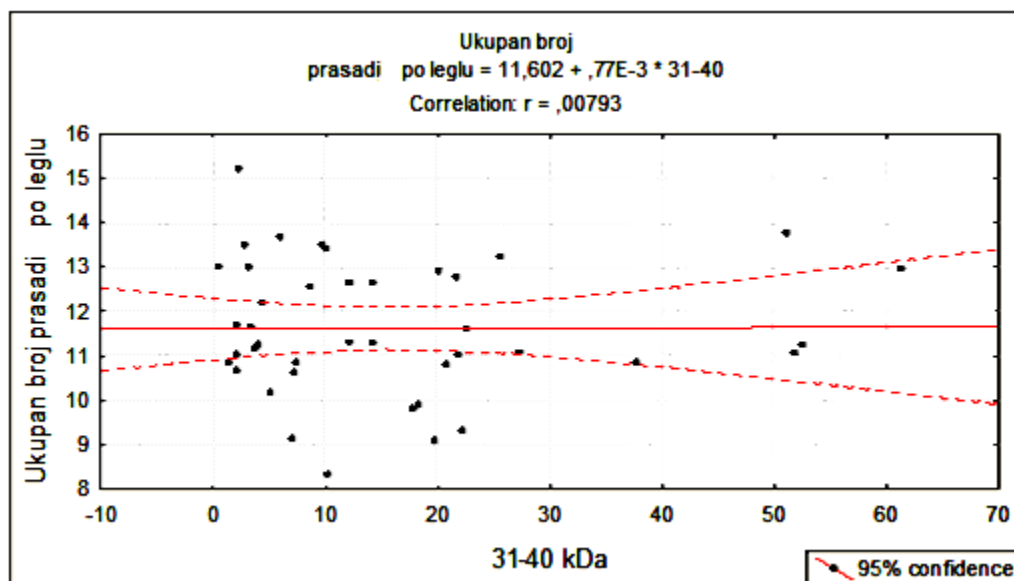
Korelacija Molekulska masa (31 – 40) Proteina, %	r (Pearson-ov koeficijent linearne korelacije)	p value
Progresivna pokretljivost	$r = 0.194$	$p = 0,22$
Povađanja	$r = 0.278$	$p = 0,078$
Ukupan br. prasadi po leglu	$r = 0.008$	$p = 0,96$



Grafikon br.34. Povezanost - korelacija između progresivne pokrjtivosti (%) i proteina od 31-40 kDa u spermalnoj plazmi.



Grafikon br.35. Povezanost - korelacija između povadjanja i proteina od 31-40 kDa u spermalnoj plazmi.



Grafikon br.36. Povezanost - korelacija između ukupnog broja prasadi po leglu i proteina od 31-40 kDa u spermalnoj plazmi.

6. DISKUSIJA

Proizvodnja svinja predstavlja značajan segment stočarske proizvodnje. Ova značajnost ogleda se pre svega u činjenici da više od 50% potrošnje mesa u svetu predstavlja svinjsko meso. Upravo iz tih razloga velika pažnja usmerena je ka unapređenju ove grane stočarstva. Učinjeni su značajni pomaci u genetici stvaranjem novih visokoproduktivnih rasa (linija). Primena veštačkog osemenjavanja imala je značajan uticaj na genetsko unapređenje u svinjarstvu u poslednjih 40 godina (*Foxcroft i sar., 2010*). Savremena proizvodnja svinja, skoro da se ne može zamisliti bez primene veštačkog osemenjavanja. Ova biotehnologija je, tokom poslednjih nekoliko decenija, nesumnjivo, imala najveći uticaj na razvoj intenzivne proizvodnje svinja u svetu (*Broekhuijse i sar., 2012*). Danas je opšte prihvaćeno mišljenje da se značajno povećanje proizvodnje svinjskog mesa, pre svega, može postići intenzivnim genetskim poboljšanjem ekonomski važnih produktivnih osobina svinja, kao što su veći dnevni prirast, povećana efikasnost konverzije hrane, tj. smanjenje potrebne količine hrane za kilogram prirasta, povećanje parametara reproduktivne efikasnosti nerastova i krmača, kao i povećana otpornost životinja na različite stresogene i zarazne bolesti (*See, 2002; Pierzchala i sar., 2006; Maes i sar., 2008; Shirali, 2014*). Za postizanje ovog cilja, nezaobilaznu i veoma važnu ulogu ima visok stepen reproduktivnog iskorištavanja genetski superiornih nerasta, kao i postizanje visokih vrednosti fertiliteta (% prašenja i broj živo rođene i zalučene prasadi po leglu) veštački osemenjenih krmača (*Smital, 2009; Stančić i Dragin, 2011; Heise, 2012; Khalifa i sar., 2014*). Naročito pažljivo treba odabrati kvalitetne neraste ali i pravilno ih držati i koristiti jer nerasti veoma utiču na svojstva populacije svinja zato što jedan nerast daje puno veći broj potomaka nego jedna krmača. Osnovni uslovi za primenu veštačkog osemenjavanja u svinjarstvu su izbor nerasta (ili sperme) ili kupovina, trening nerasta za uzimanje sperme, evaluacija sperme, priprema i skladištenje, detekcija estrusa i inseminacija (*Khalifa i sar., 2014*). Rentabilnost svinjarske proizvodnje u najvećoj meri zavisi od reproduktivnih osobina. Osobine plodnosti nerasta pre svega su uslovljene paragenetskim faktorima dok je genetski uticaj manji i uglavno zavisi od kontinuiranog rada u pravcu unapređenja selekcijskih metoda reproduktivnih rasa. Proizvodnja sperme zavisi od brojnih paragenetskih faktora, poput godišnje sezone, posebno ambijentalne temperature kao i trajanja dnevnog fotoperioda, ishrane, starosti nerasta, uslova smeštaja i zdravstvenog stanja nerasta i genetskih faktora, kao što su (rasa, linija i individua). Sve veća

globalna potreba za povećanjem proizvodnje svinjskog mesa, zahteva sve brži napredak u genetskom poboljšanju produktivnih i reproduktivnih svojstava sadašnjih i novih rasa i linija svinja. Primarni uslovi za postizanje ovog cilja su: (a) maksimalna reproduktivna eksploatacija genetski superiornih nerastova u savremenoj tehnologiji veštačkog osemenjavanja i (b) visoki stepen fertiliteta veštački osemenjenih krmača (*Yung i sar., 2010*). Efikasan izbor visoko fertilnih genetski superiornih nerastova i visok fertilitet veštački osemenjenih krmača, ima veliki ekonomski uticaj na efikasnost praktične primene ove biotehnologije. Naime, u klasičnoj tehnologiji intracervikalnog VO, koja se koristi u 99% slučajeva intenzivne proizvodnje razvijenih zemalja, od jednog ejakulata dobija se 21 do 23 inseminacione doze, odnosno oko 1200 doza po nerastu godišnje (*Singleton, 2001; Almin i sar., 2006*). Ovim brojem doza godišnje se može osemeniti oko 240 krmača i dobiti oko 2400-2900 živorođene prasadi.

Broj inseminacionih doza po ejakulatu, direktno je ograničen parametrima ejakulata (volumen, koncentracija spermatozoida u 1mL ejakulata, te broj progresivno pokretnih i morfološki normalnih spermatozoida), sa jedne i parametrima VO doze (volumen i broj progresivno pokretnih spermatozoida), sa druge strane (*Stančić, 2006*).

Veliki broj istraživanja ukazuje na činjenicu da spermalna plazma (naročito njeni proteini) ima značajan uticaj na stepen progresivne pokretljivosti spermatozoida i održavanje njihove oplodne sposobnosti *in vivo* i *in vitro* (*Waberski i sar., 1994; Stančić, 2002; Kommisrud i sar., 2002; Wolf i Smital, 2009; Nasrini Calogero, 2012*). Osim toga, spermalna plazma ima važnu ulogu u regulaciji i stimulaciji fizioloških funkcija ženskog polnog trakta, važnih za normalan transport, preživljavanje i funkciju spermatozoida *in utero*, kao i za uspešnu oplodnju i rani embrionalni razvoj (*Stančić, 2005; Stančić, 2006; Muiño-Blanco i sar., 2008; Rodriguez-Martinez i sar., 2011; López Rodríguez, 2012; Nasrini Stelletta, 2012*).

U vezi sa navedenim činjenicama, osnovni cilj istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji je bio da se ustanove:

Reproduktivne performanse nerastova - Kvalitet ejakulata nerastova po farmama

Primenom konvencionalne tehnologije veštačkog osemenjavanja, spermom jednog nerasta se, godišnje, mogu uneti novi geni kod prosečno 2500 prasadi. Zbog toga je kvalitet ejakulata nerasta jedan od najbitni faktora koji utiču na fertiliteta. Količina sperme, koju nerast izluči u aktu kopulacije, ili prilikom veštačkog uzimanja sperme, naziva se ejakulat.

Volumen ejakulata, progresivna pokretljivost, koncentracija spermatozoida, ukupan broj spermatozoida u ejakulatu, a u zadnje vreme i sadržaj protein, predstavljaju osnovne parametre kojima se meri potencijalni fertilizacioni kapacitet ejakulata (*Popwell i Flowers, 2004; Gadea, 2005; Tsakmakidis i sar., 2010; Maes i sar., 2011; López Rodríguez, 2012*). S tim u vezi, u ovoj doktorskoj disertaciji, izvršena su istraživanja osnovnih parametara kvaliteta ejakulata kod nerastova rase Landras, Jorkšir i Durok, koji se najčešće koriste u intenzivnoj proizvodnji svinja na vojvođanskim farmama.

U našem istraživanju, analiza parametara ejakulata između farmi ne ukazuje na statistička značajnost analizirano kao celina, no pojedinačna analiza pojedinih parametara između farmi ukazuje na postojanje statističke značajnosti iz čega se jasno vidi da ambijentalni uslovi, način odgajanja, ishrana i način eksploatacije u velikoj meri utiču na parametre ejakulata. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima drugih autora, koji takođe ukazuju da kvaliteta ejakulata zavisi od brojnih paragenetskih faktora kao što su godišnja sezona, ambijentalna temperatura i trajanje dnevnog fotoperioda (*Šernien i sar., 2002; Stančić i sar., 2003; Lipenský i sar., 2010; Lapuste i sar., 2011*), ishrana (*Wilson i sar., 2004*), starost nerasta (*Wolf i Smital, 2009; Oliveira i sar., 2014; Szostak i Przykaza, 2011*), uslovi smeštaja i zdravstveno stanje nerasta (*Glossop, 1998; Glossop, 2000*). Veliki broj istraživanja su pokazala da je godišnja sezona najznačajniji spoljašnji (paragenetski) faktor, koji utiče na fertilitet nerastova (*Ciereszko i sar., 2000; Smital, 2009; Lapuste i sar., 2011; Stančić i sar., 2013; Savić i sar., 2013*). Brojna istraživanja, vrlo jasno pokazuju da su parametri kvaliteta sperme nerasta statistički značajno niži tokom toplije, u odnosu na hladniju sezonu godine (*Ciereszko i sar., 2000; Corcuera i sar., 2002; Sancho i sar., 2004; Kondracki i sar., 2009; Lapuste i sar., 2011; Kunowska-Slósarz i Makowska, 2011*).

Ako se zna da je volumen ejakulat nerasta u proseku oko 300 ml, sa ukupnim brojem spermatozoida od 80 do 120 milijardi i ukoliko se sperma uzima jednom nedeljno, može se računati da je dnevna produkcija sperme od 10 do 20 milijardi spermatozoida (*Rothschild i Ruvinsky, 2011*), što omogućava da se nedeljno po nerastu dobije 20 do 40 VO doza (*Knox, 2003*). Na osnovu toga, moglo bi se reci da je uticaj različitih paragenetskih faktora jedan od razloga različitih vrednosti u ovom istraživanju dobijenih analizom volumena ejakulata, ukupnog broja spermatozoida, njihove koncentracija kao i progresivne pokretljivosti. Naime, vrednosti volumena ejakulata na ispitivanim farmama u ovom istraživanju bila je manja u

odnosu na rezultate volumena koje su dobili *Wolf i Smital (2009; 274 ml)* i *Kunowska-Slósarz i Makowska (2011; 255 ml)*, ali veći od volumena ejakulata koji su dobili *Tomiyama i sar. (2008; 164 ml)*, i *Park (2013; 193 ml)*. Suprotno ovome, *Hang i saradnici (2000)* nalaze da se volumen ejakulata ne menja značajno pod uticajem variranja sezonske ambijentalne temperature. *Frangež i sar. (2005)* u svome istraživanju pokazuje da zavisno od frekvence korišćenja nerasta, volumen ejakulata može varirati u intervalu od 198 do 256 ml.

Što se tiče prosečnog ukupnog broja spermatozoida i prosečne koncentracije spermatozoida u ejakulatu, vrednosti su iznosile 68×10^9 , a kretale su se od 10×10^9 do 136×10^9 za ukupan broj spermatozoida i $330 \times 10^6/\text{ml}$ ($84 \times 10^6/\text{ml}$ - $965 \times 10^6/\text{ml}$) za koncentraciju spermatozoida, a na osnovu tih rezultata utvrđena je značajnost razlike među farmama. Objašnjenje ovih razlika moglo bi se povezati sa radom *Smital i sar. (2004)*, koji ukazuju da povećanje ambijentalne temperature utiče negativno na broj fertilnih, a time i progresivno pokretnih spermatozoida u ejakulatu. Ovi rezultati su takođe i u saglasnosti sa navodima *Apić, (2015)* koja u svojoj doktorskoj disertaciji ukazuje na to da povećanje ambijentalne temperature smanjuje progresivnu pokretljivost spermatozoida. Rezultati prosečne progresivne pokretljivost između analiziranih farmi, dobijeni tokom našeg istraživanja, jasno ukazuju da postoji signifikantna razlika među nima, a pod uticajem paragenetskih faktora (tabela 38, grafikon 1). U prilog ovome je i rad *Shiplej (1999)* u kome autor ističe važnost procene pokretljivosti odmah posle uzimanja sperme, što navodi na zaključak da stajanjem, pokretljivost spermatozoida opada. U istraživanju koje su radili *Lipenský i sar. (2013,)* pokretljivost nativne sperme bila je 75,71%, a stajanjem sperme, bez obzira na vrstu razređivača koji je korišćen, postepeno se smanjivala. Koloidnom purifikacijom sperme nerasta, progresivna pokretljivost se značajno povećala sa 63 na 80% (*Lymberopoulos i sar., 2013*).

Novija istraživanja (*Rodriguez-Martinez i sar., 2011; Dyck i sar., 2011; López Rodríguez, 2012*) pokazuju da na parametre fertiliteta ejakulata mogu imati uticaj i neke komponente spermalne plazme, naročito sadržaj proteina. Šta se tiče procenta proteina u našem istraživanju, na svih devet farmi je proteini su prosečno iznosili 2,80%, a kretali su se od 1,43% do 5,34%. Prosečan broj proteina najveći je bio na farmi broj šest i iznosio je 3,33%, a najmanji na farmi broj pet i iznosio je 2,34%. Rezultati istraživanja nisu potvrdila signifikantno različitu vrednost proteina između analiziranih farmi ($p=0,6$). *Frunzã i sar. (2008)* navode da se sadržaj ukupnih proteina u spermalnoj plazmi nerasta kreće između 1.8% i 4.5%, što je ustanovljeno i u

našem istraživanju. U spermi nerasta, preko 90% proteina pripada grupi spermadhezina, koja se sastoji od pet članova (AQN-1, AQN-3, AWN, PSP-I, and PSP-II). Svaki od ovih članova ima različitu biološku aktivnost (*Töpfer-Petersen, 1998; Centurion i sar., 2003*). Značajnije variranje sadržaja proteina u spermalnoj plazmi tokom godine, nisu našli ni drugi autori, ali su ustanovili da se najniži nivo proteina u spermalnoj plazmi nalazi tokom toplijeg perioda godine, od jula do septembra (*Murase i sar., 2007*). *Apić (2015)* u svojoj doktorskoj disertaciji kao i istraživnja drugih autora (*Flowers, 2001; Novak i sar., 2010*), pokazuju da sadržaj proteina ne varira značajno kod jednog istog nerasta, ali da postoje značajna variranja ove vrednosti između pojedinih nerastova. Zbog toga, *Novak i sar. (2010)* navode da sadržaj spermathezina, odnosno ukupnih proteina u spermalnoj plazmi, može biti značajan marker fertilizacionog potencijala određenog nerasta. Uzimajući u obzir ove činjenice, predpostavlja se da je sadržaj proteina u spermalnoj plazmi genetska osobina svakog nerasta.

Pored toga što cilj ovog istraživanja nije bio predmet detaljne analize paragenetskih faktora, ipak može se pretpostaviti da ambijentalna temperatura i trajanje dnevnog fotoperioda uslovi smeštaja, ishrana i zdravstveno stanje nerasta utiču na spermatogenezu i sintezu svih komponenata semene plazme, a time i na kvalitet ejakulata.

Uticao rase na parametre ejakulata nerasta (Landras, Durok i Jokšir)

Kvalitet ejakulata u ovom istraživanju bio je analiziran komparacijom parametara ejakulata između tri najčešće eksplitriranih rasa (durok, landra i jokšir) u cilju utvrđivanja uticaja genetskih faktora, kao što su rasa, linija i individua kod nerasta, na kvalitet ejakulata. Ispitivanje uticaja rase, a time i genetki efekat na parametare ejakulata ispitivao je veliki broj autora (*Jankevičiūtė i Žilinskas, 2002; Katanić, 2004; Stančić i sar., 2003; Smital, 2009*). Naše istraživanje obuhvata volumen ejakulata, progresivnu pokretljivost, koncentraciju i ukupan broj spermatozoida i procenat proteina u spermalnoj plazmi šta je u saglasnosti sa ovim autorima. Najveći volumen ejakulata u proseku je bio izmeren u grupi rase Jokšir ($222\text{ml} \pm 83$), a najniži u grupi rase durok ($184\text{ml} \pm 85$), ali razlika od 38 ml nije bila statistički signifikantna (tabela 40 i grafikon 7). Kod rase landras utvrđen je volumen od 218 ml, s time što su se vrednosti kod pojedinih nerastova ove rase kretale od 130 min. volumena do 420 max. volumena. *Apić (2015)*, u svojoj doktorskoj disertaciji utvrdila je maksimalni volumen kod rase landras (301 ml), dok je minimalni volumen bio kod rase durok (228 ml). *Kommisurd i sar. (2002)* nalaze da prosečan volumen ejakulata nerastova rase durok iznosi 147 ml, rase landras 265 ml i rase jorkšir 245 ml.,

dok *Johnson i sar. (2000)*, nalaze da je prosečan ejakulat rase durok iznosio 170 ml, rase landras 252 ml, a rase jorkšir 243 ml. Slični rezultate volumena ejakulata dobijeni su i u ovom istraživanju, s time da razlika volumena između pojedinih rasa nerastova nije bila statistički značajna, ali analizom volumena po kategorijama (kategorije sa manjim volumenom ejakulata od 119ml i većim od 120ml) rezultati su pokazali značajne razlike između analiziranih rasa nerastova. Ovi rezultati su u saglasnosti sa *Wolf i Smital (2009)*, koji su ustanovili da je prosečan volumen ejakulata nerastova rase durok (200 ml) značajno manji od nerastova rase jorkšir (270 ml). Prema tome može se reći da rasa landras ima najveći volumen ejakulata, dok rasa nerastova durok ima najmanji volumen ejakulata. Razlike u volumenu i kvalitetu ejakulata mogu biti i posledica namene rasa u odgajivačkom programu. Upravo, inferiornost izrazito mesnate rase durok u volumenu ejakulata (ne i u produkciji sperme) u odnosu na plodne rase, možda je posledica selekcije u pravcu visoke proizvodnje mesa, a moguće i da je u pitanju manja brojnost populacije koja je zahtevala niži intenzitet selekcije. Neka istraživanja ukazuju na mogući poremećaj funkcija akcesornih polnih žlezda, kada su u pitanju genotipovi sa izrazito malim volumenom ejakulata. S obzirom na kompleksnost reproduktivnog mehanizma, najverovatnije je da je u pitanju niz genetskih i hormonalnih uticaja.

Prema našim rezultatima, bila je utvrđena nesignifikantno najveća progresivna pokretljivost spermatozoida kod nerastova rase durok koja je iznosila 73%, u odnosu na nerastove rase landras i jorkšir. Od ukupno ispitanih nerasta rase durok 89% pripadaju u kategoriji sa veći procenat pokretljivosti od 65% progresivne pokretljivosti spermatozoida. Progresivna pokretljivost kod nerastova rase landras bila je 68%, s time da su 69% ispitanih ejakulata imali progresivnu pokretljivost iznad 65%, dok je kod rase jorkšir progresivna pokretljivost u proseku iznosila 72% , a od ukupnog broja ispitanih ejakulata 68% imali su pokretljivost veću od 65% (tabela br. 40). Ovi rezultati su u saglasnosti sa nalazima progresivne pokretljivosti spermatozoida koje je dobila *Apić (2015)* u svojim istraživanjima. Autor je takođe utvrdio je najveća progresivna pokretljivost kod rase durok (82%) dok je kod nerastova rase jorkšir najmanja progresivna pokretljivost spermatozoida (77%) (*Apić, 2015*). Suprotno ovome *Borg i sar. (1993)* nisu utvrdili uticaj rase nerasta na progresivnu pokretljivost i morfološke osobine sperme, ali ipak smatra se da je pokretljivost najvažnija osobina koja utiče na fertilizacioni kapacitet spermatozoida (*Feitsma, 2009*), a ocena pokretljivosti spermatozoida je najvažniji parametar sperme (*Kunowska-Slósarz i Makowska, 2011*).

Koncentracija spermatozooida između analiziranih rasa nije bila statistički različita, ali ipak rezultati pokazuju da kod rase durok ejakulat ima najveću koncentraciju spermatozooida, u odnosu na ostale ispitane rase i najmanji broj spermatozooida u ejakulatu. Najmanja koncentracija utvrđena je kod rase jorkšir, dok je najveći broj spermatozooida utvrđen kod rase landras. Ovi rezultati su u saglasnost sa *Jankevičiūtė i Žilinskas (2002)* koji su utvrdili da je manja koncentracija spermatozooida (470×10^6 /ml) kod landrasa u odnosu na duroka (540×10^6 /ml).

Veliki broj istraživanja su pokazala da nivo proteina u spermalnoj plazmi nije u visokoj korelaciji sa rasom nerasta (*Gerfen i sar., 1994; Maxwell i Johnson, 1999; Apić, 2015; Stančić i sar., 2015*). Sadržaj proteina u spermalnoj plazmi je prilično konstantan kod jednog istog nerasta, međutim dokazane su velike varijacije između nerastova (*Flowers, 2001; Novak i sar., 2010*). Slični rezultati dobijeni su i u ovom istraživanju. Procentualne razlike zastupljenosti proteina nisu se razlikovale značajno. Ipak kod rase durok utvrđen je najveći procenat proteina, u odnosu na rase jorkšir i landras. Kod nerastova rase landras utvrđen je najmanji procenat proteina u ejakulatu.

Rezultati istraživanja u ovoj disertaciji pokazali su da rasa sa najmanjim volumenom ejakulata ima najveću progresivnu pokretljivost i koncentraciju spermatozooida, kao i najveći procenat proteina u spermalnoj plazmi, dok je ukupan broj spermatozooida bio najmanji. Ovi rezultati kao i rezultati do kojih su došli drugi autori, vrlo konkretno pokazuju da postoje značajne razlike u vrednostima osnovnih parametara fertilizacionog potencijala ejakulata, između pojedinih rasa nerastova i da genetski potencijal rase utiče na parametre ejakulata, a time i fertilitet ejakulata.

Uticaj starosti nerasta na parametre ejakulata

Analiza parametara ejakulata kod nerasta sa različitim starošću ukazuje da najveće promene ogledaju u koncentraciji spermatozooida i ukupnom broju spermatozooida, gde su I utvrđene i signifikantne razlike. Ovi rezultati ukazuju da uzrast utiče na spermatogenezu, tako što sa starenjem jedinke dolazi do pada intenziteta spermatogeneze. No, obzirom, na to da rezultati nisu pokazali statistički značajne razlike kod ostalih parametara, moglo bi se reći da uzrast ne utiče značajno na progresivnu pokretljivost spermatozooida i volumen semene plazme. Rezultati su pokazali da se kod nerastova oko 4 godine starosti, javlao manji volumen u odnosu na nerastove ostalih starosnih kategorija, ali te razlike nisu bile signifikantne.

Koncentracije proteina u semenoj plazmi ispitivanih nerastova nisu se razlikovale značajno između nerastova različite starosne kategorije, što je u saglasnost sa time da nivo proteina u spermalnoj plazmi nije u visokoj korelaciji sa starošću nerasta (*Gerfen i sar., 1994; Maxwell i Johnson, 1999; Apić, 2015; Stančić i sar., 2015*). Sadržaj proteina u spermalnoj plazmi je prilično konstantan kod jednog istog nerasta, međutim ustanovljeno je da postoje varijacije između nerastova i njihovog uzrasta (*Flowers, 2001; Novak i sar., 2010*). Prema tome od dobijenih rezultata u ovome istraživanju može se reći da, starost utiče na intenzitet spermatogeneze, a time verovatno dovodi i do smanjivanje fertiliteta ejakulata.

Uticaj procentualne zastupljenosti ukupnih proteina u semenoj plazmi na parametre i fertilitet ejakulata ispitivanih nerastova

Nova istraživanja navode da proteini spermalne plazme mogu biti u korelaciji sa fertilitetom nerastova i mogu služiti kao još jedan od parametara ocene kvaliteta semena (*Dyck i sar., 2011; Rodriguez-Martinez i sar., 2011; Rodriguez-Martinez, 2013*). Takođe, dokazano je da nerastovi sa višim sadržajem proteina u spermalnoj plazmi imaju znatno bolji fertilizacioni potencijal u odnosu na nerastove sa niskim sadržajem proteina spermalne plazme (*Flowers, 1998; Novak i sar., 2010; Mogielnicka-Brzozowska i Kordan, 2011; Stančić i sar., 2012*). Cilj istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji je bio da se ustanovi da li sadržaj proteina u spermalnoj plazmi utiče na parametre ejakulata, odnosno na fertilizacioni potencijal ejakulata nerastova (broj pogađanja, ukupno oprušenih i ukupan broj prasadi po leglu). Prema rezultatima u ovom istraživanju može se videti da procentualna zastupljenost proteina u ejakulatu značajno utiče na parametre ejakulata. Rezultati su pokazali da povećanje procenta ukupnih proteina nezavisno od njihove molekulske težine pozitivno utiče na koncentraciju, broj spermatozoida i na progresivnu pokretljivost spermatozoida, s time da su razlike bile statistički značajne. Ovakav rezultat je potvrđen i analizom korelacije, odnosno povezanost procenata proteina i pokretljivost spermatozoida, gde je utvrđena pozitivna korelacija i pored toga što ta povezanost nije bila statistički značajna. Slični rezultati koji se odnose na progresivne pokretljivost, dobili su i *Apić i sar., (2015)* koji su utvrdili da je progresivna pokretljivost bila znatno veća (82% i 41%) kod nerastova sa znatno većim sadržajem proteina spermalne plazme (4%), u poređenju sa istim parametrima (76% i 12%) kod nerastova sa nižim sadržajem proteina u spermalnoj plazmi (2%). Drugi autori (*Maxwell i Johnson, 1999; Ashrafzadeh i sar., 2013; González-Cadavid i sar., 2014*) su utvrdili da redukcija koncentracije proteina spermalne plazme u razređenom semenu

nerastova vodi ka postepenom smanjenju progresivne pokretljivosti, vremenu preživljavanja, akrozomalnog integriteta i mitohondrijalne aktivnosti. Mora se imati u vidu da koncentracija proteina u semenoj plazmi nema direktni uticaj na intenzitet spermatogeneze (Rocha i sar. 2015), ali procenat zastupljenosti ukupnih proteina u semenoj plazmi, pozitivno utiče na broj i koncentraciju vitalnih spermatozoida a time i pokretljivost spermatozoida u ejakulatu. Ovi rezultati mogli bi se povezati i sa rezultatima koje smo dobili analizom parametra fertiliteta. Povećanje koncentracije ukupnih proteina dovelo je do povećanja broja ukupno oprašenih krmača, odnosno pada povađanja sa jedne strane, a sa druge dovelo je i do značajnog povećanja broja prasadi po leglu. Pokretljivost je najvažnija osobina koja utiče na fertilizacioni kapacitet spermatozoida (Feitsma, 2009), a ocena pokretljivosti spermatozoida je najvažniji parametar sperme (Kunowska-Slósarz i Makowska, 2011). U prilog uticaju pokretljivosti sperme na procenat prašenja ide i rezultat istraživanje koje je radio Park (2013) u kojem je utvrđen stimulativni linearni regresijski uticaj ukupne pokretljivosti spermatozoida ($b=0,00349$; $p<0,0001$). Povećanje ukupnih proteina u ejakulatu dovodi do značajno povećane koncentracije i broja spermatozoida što je verovatno rezultat protektivnog efekta proteina na spermatozoide, a time i povećane njihove pokretljivosti, što rezultira poboljšanjem fertilizacionog kapaciteta ejakulata nerastova. Flowers (1998) je ustanovio visoku pozitivnu korelaciju relativne koncentracije proteina u spermalnoj plazmi, sa fertilitetom sperme nerasta *in vitro*, te da ovo može biti značajan faktor rangiranja nerastova prema stepenu njihovog fertiliteta prilikom osemenjavanja krmača, tako da u kasnijim istraživanjima ovog autora, ova pretpostavka je, i potvrđena. Naime, vrednost prašenja i prosečan broj živo rođene prasadi u leglu, bili su značajno veći kod krmača osemenjenih spermom koja sadrži veću koncentraciju specifičnih proteina (Flowers, 2001). Strzežek i sar. (2005) su utvrdili da proteini spermalne plazme nerasta utiču na stepen progresivne pokretljivosti na povađanu i na ukupan broj prasadija po leglu. Podaci do kojih je došao Zhu (2000) predočavaju da bi merenje proteina spermalne plazme moglo biti od velikog značaja za evaluaciju kvaliteta nerastovskog semena. Štaviše, Flowers (2001) je utvrdio da nerastovi sa višim sadržajem proteina u spermalnoj plazmi pokazuju znatno veći indeks prašenja (86,7%) kao i veći broj živo rođene prasadi po leglu (11,2), u poređenju sa nerastovima čiji je sadržaj proteina u spermalnoj plazmi nizak (indeks prašenja = 78,4; živo rođena prasad/leglo= 10,4). Na osnovu rezultata u ovom istraživanju, kao i rezultata do kojih su došli drugi autori, može se zaključiti da sadržaj proteina u spermalnoj plazmi ima veliki značaj tokom

detekcije ejakulata sa smanjenim fertilizacionim potencijalom. Ovo može biti važno prilikom selekcije visoko fertilnih nerastova, radi njihove upotrebe za veštačko osemenjavanje.

Uticao i povezanost različite procentualne zastupljenosti proteina različite molekulske mase na parametre: progresivnu pokretljivost, ukupan broj oprušenih krmača, procentat povadanja i ukupan broj prasadi po leglu

Spermalna plazma sadri nekoliko biomarkera, kao što su peptidi i proteini, koji mogu biti povezani sa fertilizacionim kapacitetom sperme nerasta (*Rodriguez-Martinez i sar., 2011; Dyck i sar., 2011; López Rodríguez, 2012*). U spermalnoj plazmi nerasta, nalaze se različiti proteini sa različitim molekulskom masom kao što su: Spermadhesin AQN-(AQN-1, AQN-2, AQN-3) i AWN (AWN-1, AWN-2), (PSP-I) i (PSP-II); Epididimalen- specifičen lipokalin(Epididymal-specific lipocalin-5 (LCN 5); Glutation peroksidaza (Glutathione peroxidase - GPX5); Lipokalin molekulske mase 17 KD (Lipocalin EP17 - epididymal protein of 17 kilodaltons); Laktadherin (Lactadherin - SP47 / SED1); Osteopontin (OPN); Laktotransferin (Lactotransferrin - LTF); Laktoferrin (LF); Fibronectin (FN1) i td.

Analizom rezultata efekta proteina u ejakulata u celini, može se zaključiti da povećanje procentualne zastupljenosti ukupnih proteina u semenoj plazmi ima pozitivni efekat na kvalitet ejakulata, proučavan kroz parametare ejakulata kao što su broj i koncentracija spermatozoida u ejakulatu i njihova progresivna pokretljivost, a time i na fertilitet, proučavan kroz veći broj ukupno oprušenih krmača i znatno povećan broj oprušenih prasadi po leglu. Sa obzirom na to da je proteinski sastav semene plazme formiran od proteina različite molekulske mase, koji su zastupljeni u različitom procentu, a pri tome svaka frakcija ima svoju specifičnu funkciju, u ovom istraživanju bio je analiziran efekat svake od ovih frakcija proteina kod različitim koncentracija zastupljenosti na kvalitet i fertilitet ejakulata. U ovom istraživanju bile su analizirane frakcije proteina sa molekulskom masom od 10kDa do 40kDa, imajući u obzir da su proteini sa ovim rasponom molekulske mase najzastupljeni u semenoj plazmi. U cilju detaljne analize efekata svake frakcije proteina semene plazme u, proteini su bili podeljeni u tri kategorije prema njihovoj molekulskoj masi.

Prilikom analize efekata procentualne zastupljenosti proteina sa različitim molekulskom masom, pregledom dobijenih rezultata može se videti da procentualna zastupljenost proteina sa molekulskom masom od 10 do 20 kDa ne utiče značajno na progresivnu pokretljivost i pored toga što su rezultati pokazali neznačajnu pozitivnu korelaciju. Ovi rezultati se takođe mogu

povezati i sa rezultatima fertiliteta sperme, analizirajući sa povećanjem broja povađanja, a time i smanjenje broja oprušenih majki. Takođe nije bila utvrđena značajna razlika u broju ukupno oprušenih prasadi po leglu, ali rezultati povezanosti pokazali su neznačajnu negativnu korelaciju sa brojem oprušenih prasadi po leglu. Prema ovim rezultatima moglo bi se reći da bi ova frakcija proteina ne utiče na ispitivane parametre u ovom istraživanju. Sa druge strane, *Daskalova i sar.* (2014) ustanovili su da proteini sa molekulkom masom ispod 20 kDa u semenoj plazmi imaju primarno protektivnu funkciju na spermatozoide. U prilog ovome su i rezultati rada *Leahy i sar* (2009) koji su ustanovili da se dodavanjem proteina molekulske mase iznad 10 kDa u ejakulat (pre krioprezervacije) dobija bolji kvalitet nakon odmrzavanje ejakulata. Time ukazali su na protektivni efekat ove frakcije proteina u ejakulatu.

Prema analizi dobijenih rezultata sa različitim procentualnom zastupljenosti proteina molekulske mase od 21 do 30 kDa jasno se može videti da ova frakcija proteina ima uticaj na fertilitet, ako se analiziraju rezultati broja povađanja i broja oprušenih majki. Naime, sa povećanjem procenta zastupljenosti proteina molekulske mase od 21 do 30 kDa znatno se povećao broj oprušenih krmača, odnosno smanjio se procenat povađanja. Ovaj rezultat može se takođe povezati i sa neznačajnom negativnom korelacijom procentualne zastupljenosti ove frakcije proteina i broja povađanja. Prema tome rezultati jasno ukazuju na to da ova frakcija proteina najverovatnije poboljšava fertilitet ejakulata što je u saglasnosti sa navodima *Novak i sar.* (2010) i pored toga što rezultati ukazuju da procenat zastupljenosti ove frakcije u semenoj plazmi nije značajno uticao na progresivnu pokretljivost spermatozoida i da njihova povezanost neznačajno negativno korelira. Broj prasadi po leglu takođe neznačajno negativno korelira sa procentualnom zastupljenosti proteina ove frakcije što bi se moglo povezati sa uticajem ovih proteina i progresivne pokretljivosti spermatozoida. Dobijeni rezultati su u saglasju sa navodima *Jonakova i sar.* 2007 i *Caballero i sar.*2004 da visoka koncentracija proteina sa molekulkom masom do 30 kDa (26kDa) ima pozitivni efekat na broj oprušenih krmača i na broj oprušenih prasadi po leglu. U našem istraživanju razlike u broju prasadi po leglu i povezanost zastupljenosti proteina ove frakcije nije bila statistički značajna.

Dobijeni rezultati analizom procentualne zastupljenosti proteina molekulske mase od 31 do 40 kDa nisu pokazali značajne razlike u progresivnoj pokretljivosti, ukupnom broju oprušenih krmača i ukupnom broju prasadi po leglu. Ranija istraživanja pokazala su da proteini velike molekulske mase imaju inhibitorski efekat na progresivnu pokretljivost spermatozoida što

verovatno utiče i na fertilitet ejakulata (*Iwamoto i sar 1992*). Rezultati analize progresivne pokretljivosti u našem istraživanju ukazuju da ne postoji značajan uticaj procentualne zastupljenosti proteina molekulske mase od 31 do 40 kDa na spermatozoide ejakulata, pored toga što ova frakcija proteina neznajno pozitivno korelira sa progresivnom pokretljivošću spermatozoida. Kod analize broja povećanja, utvrđena je statistička razlika između različitih procentualnih zastupljenosti proteina molekulske mase od 31 do 40 kDa. Rezultati pokazuju da je broj povećanja značajno veći kod 11% do 20% zastupljenosti proteina molekulske mase od 31kDa do 40kDa, dok je značajno manji kod 21% do 30% zastupljenost ove frakcije (31kDa do 40kDa) proteina. Analiza korelacije ukazuje takođe na neznajno pozitivnu povezanost ovih proteina i broja povećanja. U prilog ovome su idu rezultati dobijeni analizom ukupnog broja oprušenih krmača, gde može da se vidi da je taj broj najmanji kod onih osemenjenih ejakulatom koji u semennoj plazmi ima 11% do 20% zastupljenosti proteina molekulske mase od 31 do 40 kDa. Ovaj rezultat može se takođe povezati i sa brojem oprušenih prasadi po leglu gde se može videti da krmače osemenjene ejakulatom gde je sadržaj proteina ove frakcije iznosi oko 11% do 20%, postoji namanji broj prasadi po leglu i da se taj broj neznajno povećava i neznajno pozitivno korelira, povećanjem procentualne zastupljenosti ove frakcije proteina. Prema tome, moglo bi se reći da povećanjem ove frakcije, ona neznajno pozitivno utiče na broj parsadi u leglu. Rezultati do kojih je došao *Flowers (2001)* ukazuju na pozitivan uticaj u pogledu broja ukupno oprušenih majki i broj prasadi u leglu, kod majki osemenjenih ejakulatom veće procentualne zastupljenosti proteina molekulske mase 55 kDa.

Prema ovim rezultatima može se reći da frakcija proteina sa najmanjom molekulskom masom (od 10 kDa do 21 kDa) ima pozitivan efekat na spermatozoide, ali ne i na fertilitet, čime se potvrđuje da ova frakcija ima protektivnu funkciju na spermatozoide. Sa druge strane, veći procenat proteina sa velikom molekulskom masom (od 31 do 40kDa) ima negativni efekat na fertilitet sa povećanjem broja majki koje nisu koncipirale, odnosno smanjenje broja kmača koje su se oprasile. Iz dobijenih rezultata naših istraživanja proizilazi da pozitivni efekat na fertilitet imaju proteini sa molekulskom masom od 21kDa do 30 kDa. Kod krmača koje su osemenjene ejakulatom sa većim procentom ove frakcije proteina utvrđen je najmanji broj povećanja odnosno najveći broj ukupno oprušenih. Iz rezultata se može videti uticaj proteina sa određenom molekulskom masom na parametare ejakulata i na fertilitet, što se može potvrditi analizom povezanosti ili korelacijom. Na osnovu dobijenih rezultata ovog istraživanja nameće se zaključak

da proteini sa manjom molekulskom masom (10 -20kDa) imaju pozitivan efekat na spermatozoide, a proteini sa molekulskom masom od 21 do 40 kDa imaju pozitiven efekat na fertilitet ejakulata.

7. ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata eksperimentalnih istraživanja, moguće je izvesti sledeće zaključke:

1. Analiza parametara ejakulata između farmi ne ukazuje statističku značajnost analiziranih kao celina, ali pojedinačna analiza farmi ukazuje na postojanje statističke značajnosti kod nekih parametara što bi se moglo pretpostaviti da su paragenetski faktori (ambijentalni uslovi, način odgajanja, ishrana i način eksploatacije) utiču na parametre ejakulata.

2. Rezultati istraživanja u ovoj disertaciji pokazali su da rasa durok u odnosu na jorkšir i landras ima manji volumen ejakulata ali je kod ove rase utvrđena najveća progresivna pokretljivost i koncentracija spermatozoida kao i najveći procenat proteina u spermalnoj plazmi, a sa druge strane najmanji ukupan broj spermatozoida. Ovi rezultati vrlo konkretno pokazuju da postoje značajne razlike u vrednostima osnovnih parametara fertilizacionog potencijala ejakulata, između pojedinih rasa nerastova i da genetski potencijal rase utiče na parametre ejakulata, a time i na fertilitet samog ejakulata.

3. Analiza parametara ejakulata kod nerastova sa različitim starošću ukazuju da najveće promene nastaju u pogledu koncentracije spermatozoida i ukupnog broja spermatozoida, gde su i utvrđene signifikantne razlike. Ovi rezultati ukazuju na to da uzrast utiče na spermatogenezu tako da sa starenjem nerasta dolazi do pad intenziteta spermatogeneze.

4. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da procentualna zastupljenost proteina u ejakulatu značajno utiče na parametre ejakulata. Naime rezultati su pokazali da povećanje procenta ukupnih proteina nezavisno od njihove molekulske mase, pozitivno utiče na koncentraciju i broj spermatozoida, takođe i na progresivnu pokretljivost spermatozoida, s time da su razlike bile statistički značajne. Ovakav rezultat je potvrđen i analizom korelacije procenata proteina i pokretljivosti spermatozoida, gde je utvrđena pozitivna korelacija i pored toga što ta povezanost nije bila statistički značajna. Pokazalo se da ejakulati sa većim procentom ukupnih proteina imaju znatno veću koncentraciju i broj spermatozoida, u odnosu na ejakulate sa niskom vrednosti ukupnih proteina. Iz ovoga proizilazi da ukupni proteini imaju protektivni efekat na spermatozoide a time i povećanje njihove pokretljivosti i poboljšanje fertilizacionog kapaciteta ejakulata nerastova.

5. Povećanje koncentracije ukupnih proteina dovelo je do povećanja broja oprашenih krmača, odnosno smanjenja povađanja sa jedne strane, a sa druge do značajnog povećanja broja prasadi po leglu. Na osnovu rezultata u ovom istraživanju može se zaključiti da visok sadržaj proteina u spermalnoj plazmi ima veliki značaj za detekciju ejakulata sa povišenim fertilizacionim potencijalom, što može biti od pomoći prilikom selekcije visoko fertilnih nerastova, radi njihove upotrebe za veštačko osemenjavanje, i obrnuto.

6. Kod analize efekata procentualne zastupljenosti proteina sa različitim molekulskom masom, iz dobijenih rezultata može se zaključiti da procentualna zastupljenost proteina sa molekulskom masom od 10 do 20 kDa značajno ne utiče na progresivnu pokretljivost i pored toga što su rezultati pokazali neznačajnu pozitivnu korelaciju. Ovi se rezultati takođe mogu povezati i sa rezultatima fertiliteta sperme, analizirajući povećanje broja povađanja, a time i smanjenje broja oprашenih majki. Takođe, nije bila utvrđena značajna razlika u broju oprашenih prasadi po leglu, ali rezultati povezanosti pokazuju neznačajno negativnu korelaciju broja oprашenih prasadi po leglu. Rezultati upućuju na to da bi ova frakcija proteina imala drugi efekat na spermatozoide, ali ne i na ispitivane parametre u ovom istraživanju, ali i na fertilitet ejakulata, već da proteini molekulske mase ispod 20 kDa u semenoj plazmi imaju primarno protektivnu funkciju na spermatozoide.

7. Prema dobijenim rezultatima analizom različite procentualne zastupljenosti proteina molekulske mase od 21 do 30 kDa, jasno se može videti da ova frakcija proteina ima uticaj na fertilitet, ako se analiziraju rezultati broja povađanja i broja oprашenih majki. Naime, sa povećanjem procenta zastupljenosti proteina molekulske mase od 21 do 30 kDa, bitno se povećao broj ukupno oprашenih krmača, odnosno smanjio se procenat povađanja. Ovaj rezultat može se takođe povezati i sa neznačajnom negativnom korelacijom procentualne zastupljenosti ove frakcije proteina i broja povađanja. Rezultati ukazuju na to da ova frakcija proteina najverovatnije poboljšava fertilitet ejakulata.

8. Rezultati analize uticaja proteina molekulske mase od 31 do 40 kDa i njihova procentualna zastupljenost, nisu pokazali značajan uticaj na parametre ejakulata i pored neznačajne pozitivne korelacije sa progresivnom pokretljivošću spermatozoida. Suprotno tome kod analize broja povađanja, može se videti da povećanje koncentracije ove frakcije proteina značajno dovodi do opadanja broja povađanja, odnosno raste broj ukupno oprашenih krmača i

raste broj oprušenih prasadi po leglu. Vrednosti ovih parametara takođe su bila u pozitivnoj korelaciji sa procenatom proteina molekulske mase od 31 do 40 kDa.

9. Kao kratak zaključak dobijenih rezultata ovog istraživanja, može se reći da proteini sa manjom molekulskom masom imaju pozitivan protektivni efekat na spermatozoide(10-20kDa), a da proteini molekulske mase od 21 do 40 kDa imaju pozitivan efekat na fertilitet ejakulata.

8. LITERATURA

1. **Alm K, Peltoniemi OA, Koskinen E, Andersson M.** Porcine field fertility with two different insemination doses and the effect of sperm morphology. *Reproduction in domestic animals*. 2006 Jun 1;41(3):210-3.
2. **AMANN RP.** Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately?. *Journal of andrology*. 1989 Mar 4;10(2):89-98.
3. **Apić J, Radović I, Stančić I, Vakanjac S.** Boar and season effects on some parameters of semen fertilizing potential. *Veterinarski glasnik*. 2016;70(5-6):163-74.
4. **Apić J, Stančić I, Vakanjac S, Radović I, Milovanović A, Barna T, Maletić M.** Influence of the protein content of boar seminal plasma on spermatozoa viability, motility and acrosome integrity in diluted semen stored for 3 days. *Anim. Reprod.* 2016 Jan 1;13(1):36-41.
5. **Apić J, Vakanjac S, Radović I, Kučević D, Jotanović S, Kanački Z, Stanković B.** Proteingehalt im Samenplasma von Zuchtebern auf den Betrieben für intensive Schweineproduktion in Serbien.
6. **Apić J.** Effect of protein content in the boar seminal plasma on the diluted semen parameters and fertility of artificially inseminated sows (PhD Thesis). Faculty of Agriculture, Department of Veterinary Medicine, University of Novi Sad, Serbia, 2015.
7. **Apić J.** Uticaj sadržaja proteina u spermalnoj plazmi nerasta na parametre razređene sperme i fertilitet veštački osemenjenih krmača (Doktorska disertacija) (2015). Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu,
8. **Araujo AB, Wittert GA.** Endocrinology of the aging male. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2011 Apr 1;25(2):303-19.
9. **Ashrafzadeh A, Karsani SA, Nathan S.** Mammalian sperm fertility related proteins. *International journal of medical sciences*. 2013;10(12):1649.
10. **Ashrafzadeh A, Karsani SA, Nathan S.** Mammalian sperm fertility related proteins. *International journal of medical sciences*. 2013;10(12):1649.
11. **Audet I, Bérubé N, Bailey JL, Laforest JP, Matte JJ.** Effects of dietary vitamin supplementation and semen collection frequency on reproductive performance and semen quality in boars. *Journal of animal science*. 2009 Jun 1;87(6):1960-70.
12. **Байичев Ж, Първанов П, Николов И, Събев М, Шиндарска З.** Искусствено осеменяване и андрология на селскостопанските животни. София (2007).

13. **Bilskis R, Sutkeviciene N, Riskeviciene V, Januskauskas A, Zilinskas H.** Effect of active immunization against GnRH on testosterone concentration, libido and sperm quality in mature AI boars. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2012 Dec;54(1):33.
14. **Bojkovski J, Vakanjac S.** ZDRAVSTVENO-REPRORIDUKTIVNI PROBLEMI SVINJA NA KOMERCIJLANIM FARMAMA. *Zbornik radova*, 2014, Vol. 19.(21),.
15. **Borchart Netto G.** Causes of Variations of Oestrus Length and Onset of Oestrus-Ovulation Interval and their Relationships with Pregnancy Rate and Litter Size in Multiparous Sows. (PhD Thesis). *Institute of Reproduction, Hanover, 1998.*
17. **Borg KE, Lunstra DD, Christenson RK.** Semen characteristics, testicular size, and reproductive hormone concentrations in mature Duroc, Meishan, Fengjing, and Minzhu boars. *Biology of reproduction*. 1993 Sep 1;49(3):515-21.
18. **Broekhuijse ML, Feitsma H, Gadella BM.** Artificial insemination in pigs: predicting male fertility. *Veterinary Quarterly*. 2012 Sep 1;32(3-4):151-7.
19. **Brown BW.** A review of nutritional influences on reproduction in boars, bulls and rams. *Reproduction Nutrition Development*. 1994;34(2):89-114.
20. **Caballero I, Vazquez JM, Centurion F, Rodríguez-Martínez H, Parrilla I, Roca J, Cuello C, Martínez EA.** Comparative effects of autologous and homologous seminal plasma on the viability of largely extended boar spermatozoa. *Reproduction in Domestic Animals*. 2004 Oct 1;39(5):370-5.
21. **Caballero I, Vazquez JM, García EM, Parrilla I, Roca J, Calvete JJ, Sanz L, Martínez EA.** Major proteins of boar seminal plasma as a tool for biotechnological preservation of spermatozoa. *Theriogenology*. 2008 Nov 30;70(8):1352-5.
22. **Caballero I, Vazquez JM, Gil MA, Calvete JJ, Roca J, Sanz L, Parrilla I, Garcia EM, Rodríguez-Martínez H, Martínez EA.** Does Seminal Plasma PSP-I/PSP-II Spermadhesin Modulate the Ability of Boar Spermatozoa to Penetrate Homologous Oocytes In Vitro?. *Journal of andrology*. 2004 Nov 12;25(6):1004-12.
23. **Calvete JJ, Carrera E, Sanz L, Töpfer-Petersen E.** Boar spermadhesins AQN-1 and AQN-3: oligosaccharide and zona pellucida binding characteristics. *Biological chemistry*. 1996;377(7-8):521-8.

24. Centurion F, Vazquez JM, Calvete JJ, Roca J, Sanz L, Parrilla I, Garcia EM, Martinez EA. Influence of porcine spermadhesins on the susceptibility of boar spermatozoa to high dilution. *Biology of reproduction*. 2003 Aug 1;69(2):640-6.
25. Cheon YM, Kim HK, Yang CB, Yi YJ, Park CS. Effect of season influencing semen characteristics, frozen-thawed sperm viability and testosterone concentration in Duroc boars. *ASIAN AUSTRALASIAN JOURNAL OF ANIMAL SCIENCES*. 2002 Apr 1;15(4):500-3.
26. Christensen P, Stenvang JP, Godfrey WL. A flow cytometric method for rapid determination of sperm concentration and viability in mammalian and avian semen. *Journal of andrology*. 2004 Mar 4;25(2):255-64.
27. Christensen P, Stryhn H, Hansen C. Discrepancies in the determination of sperm concentration using Bürker-Türk, Thoma and Makler counting chambers. *Theriogenology*. 2005 Mar 1;63(4):992-1003.
28. Ciereszko A, Ottobre JS, Glogowski J. Effects of season and breed on sperm acrosin activity and semen quality of boars. *Animal Reproduction Science*. 2000 Dec 1;64(1-2):89-96.
29. Claus R, Weiler U, Wagner HG. Photoperiodic influences on reproduction of domestic boars: II. Light influences on semen characteristics and libido. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A*. 1985 Feb 12;32(1-10):99-109.
30. Claus R. Physiological role of seminal components in the reproductive tract of the female pig. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*. 1990;40:117-31.
31. Close WH, Roberts FG. Nutrition of the working boar.. ed. 2., 347-368.
32. Colenbrander B, Kemp B. Factors influencing semen quality in pigs. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1990(Supplement No. 40):105-15.
33. Corcuera BD, Hernandez-Gil R, Romero CD, Rillo SM. Relationship of environment temperature and boar facilities with seminal quality. *Livestock Production Science*. 2002 Feb 1;74(1):55-62.
34. Cremades T, Carvajal G, Hernandez M, Vazquez JM, Martinez EA, Roca J. 92 THE ADDITION OF SEMINAL PLASMA FROM INDIVIDUAL BOARS TO FREEZING EXTENDER CAN IMPROVE THE POST-THAW SPERM SURVIVAL. *Reproduction, Fertility and Development*. 2003 Dec 10;16(2):167-.

- 35. Daskalova D, Kukov A, Kirilova I, Ivanova-Kicheva M.** Protein analysis of boar seminal plasma proteins with protective effect during low-temperature storage of spermatozoa. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2014 Jul 4;28(4):716-20.
- 36. De Andrade AF, De Arruda RP, Celeghini EC, Nascimento J, Martins SM, Raphael CF, Moretti AS.** Fluorescent stain method for the simultaneous determination of mitochondrial potential and integrity of plasma and acrosomal membranes in boar sperm. *Reproduction in domestic animals*. 2007 Apr;42(2):190-4.
- 37. Didion BA.** Computer-assisted semen analysis and its utility for profiling boar semen samples. *Theriogenology*. 2008 Nov 1;70(8):1374-6.
- 38. Dimitrov S, Bonev G, Georgiev S, Atanasov V.** Metodi za preценка i kontrola na oploditelnata sposobnost na semenata tečnost. 2000 Stara Zagora.
- 39. Dyck MK, Foxcroft GR, Novak S, Ruiz-Sanchez A, Patterson J, Dixon WT.** Biological markers of boar fertility. *Reproduction in domestic animals*. 2011 Sep;46:55-8.
- 40. Dziekońska A, Strzeżek J.** Boar variability affects sperm metabolism activity in liquid stored semen at 5 C. *Polish journal of veterinary sciences*. 2011 Dec 1;14(1):21-7.
- 41. European Food Safety Authority (EFSA).** Animal health and welfare aspects of different housing and husbandry systems for adult breeding boars, pregnant, farrowing sows and unweaned piglets-Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare. *EFSA Journal*. 2007 Oct;5(10):572.
- 42. Feitsma H.** Artificial insemination in pigs, research and developments in The Netherlands, a review. *Acta scientiae veterinariae*. 2009;37(Supl 1):s61-71.
- 43. Flowers W. L.** Anatomy and Physiology of the Boar. Department of Animal Science North Carolina State University Raleigh, (1998).N.C. 27695-7621
- 44. Flowers WL, Rodriquez-Martinez H, Vallet JL, Ziecik AJ.** Selection for boar fertility and semen quality—the way ahead. *Society of Reproduction and Fertility*. 2009;66:67-78. Flowers, W. L. (2009). Selection for boar fertility and semen quality—the way ahead. *Society of Reproduction and Fertility*, 66, 67-78.
- 45. Flowers WL.** Boar fertility and artificial insemination. Proc. 15th IPVC Congress, Birmingham, Rngland, 5-9 July, 1998. Pp 45-51.
- 46. Flowers WL.** Factors affecting the efficient production of boar sperm. *Reproduction in domestic animals*. 2015 Jul;50:25-30.

47. **Flowers WL.** Relationship between seminal plasma proteins and boar fertility. Raleigh, NC: Annual swine news. 2001:1-4.
48. **Foxcroft GR, Patterson J, Cameron A, Dyck MK.** Application of advanced AI technologies to improve the competitiveness of the pork industry. In Proceedings of the 21st International Pig Veterinary Society Congress, Vancouver, Canada 2010 Jul 18 (p. 25).
49. **Frangež R, Gider T, Kosec M.** Frequency of boar ejaculate collection and its influence on semen quality, pregnancy rate and litter size. *Acta Veterinaria Brno.* 2005;74(2):265-73.
50. **Frunză I, Cernescu H, KORODOI G.** Physical and chemical parameters of boar sperm. *Lucrări Stiințifice Medicină Veterinară.* 2008;41:631-40.
51. **Gadea J.** Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. *Theriogenology.* 2005 Jan 15;63(2):431-44.
52. **Gagrčin M, Kovčič S, Stančić B.** Zdravstveni i proizvodni rezultati u farmama svinja sa područja Vojvodine za 2000. godinu. 2001.
53. **Gagrčin M, Stančić B, Božić A, Orlić D.** Intrauterine infections in pigs. *Lucrari Stiintifice Medicina Veterina, Timisoara2003, XXXVI, pp. 479-482.*
54. **Garcia EM, Vázquez JM, Calvete JJ, Sanz L, Caballero I, Parrilla I, Gil MA, Roca J, Martinez EA.** Dissecting the Protective Effect of the Seminal Plasma Spermadhesin PSP-I/PSP-II on Boar Sperm Functionality. *Journal of andrology.* 2006 May 6;27(3):434-43.
55. **Garcia JC, Dominguez JC, Pena FJ, Alegre B, Gonzalez R, Castro MJ, Habing GG, Kirkwood RN.** Thawing boar semen in the presence of seminal plasma: effects on sperm quality and fertility. *Animal reproduction science.* 2010 May 1;119(1-2):160-5.
56. **Garcia R, Pallas A, Hernandez-Gil R, Dimitrov S.** The use of synthetic seminal plasma (Predil MR-A®) as a method to facilitate procedures with cervical and post-cervical artificial insemination of sows. *Agricultural Science and Technology.* 2009;1(1):2-7.
57. **Gerfen RW, White BR, Cotta MA, Wheeler MB.** Comparison of the semen characteristics of Fengjing, Meishan and Yorkshire boars. *Theriogenology.* 1994 Feb 1;41(2):461-70..
58. **Gerrits RJ, Lunney JK, Johnson LA, Pursel VG, Kraeling RR, Rohrer GA, Dobrinsky JR.** Perspectives for artificial insemination and genomics to improve global swine populations. *Theriogenology.* 2005 Jan 15;63(2):283-99.

59. Gil MC, García-Herreros M, Barón FJ, Aparicio IM, Santos AJ, García-Marín LJ. Morphometry of porcine spermatozoa and its functional significance in relation with the motility parameters in fresh semen. *Theriogenology*. 2009 Jan 15;71(2):254-63.
60. Glossop C. AI in pigs: the production of quality-assured, healthy semen. *In Practice*, (1998). 20(4), 182-188.
61. Glossop CE. Animal welfare and the artificial insemination industry. *Boar Semen Preservation IV*, Beltsville, Maryland. 2000 Aug:207-11.
62. Gomeida M, Harkourt HA, Roldan SR. Sperm Competition and Sexual Selection. Acad. Press, San Diego. Pp. 667. 1998;752.
63. González-Cadavid V, Martins JA, Moreno FB, Andrade TS, Santos AC, Monteiro-Moreira AC, Moreira RA, Moura AA. Seminal plasma proteins of adult boars and correlations with sperm parameters. *Theriogenology*. 2014 Sep 15;82(5):697-707.
64. Graham EF, Schmehl MK, Nelson DS. Problems with laboratory assays. In *Proceedings of the eighth technical conference on artificial insemination and reproduction*. 1980 (pp. 59-66). National Association of Animal Breeders, Inc..
65. Hafez ES, Hafez B, editors. *Reproduction in farm animals*. John Wiley & Sons; 2013 May 13.
66. Heise A. Artificial Insemination in Veterinary Science. In *A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine 2012*. InTech.
67. Hensworth HP. Control of Pig Reproduction. *Butterworth, 1982, London, pp. 585-612*.
68. Hogg A, Levis DG. Swine Reproductive Problems: Infectious Causes. Cooperative Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska--Lincoln; 1997.
69. Hoshino Y, Koketsu Y. A repeatability assessment of sows mated 4–6 days after weaning in breeding herds. *Animal reproduction science*. 2008 Oct 31;108(1):22-8.
70. Huang SY, Kuo YH, Lee YP, Tsou HL, Lin EC, Ju CC, Lee WC. Association of heat shock protein 70 with semen quality in boars. *Animal Reproduction Science*. 2000 Nov 1;63(3):231-40.
71. Hunter RH, Nichol R. A preovulatory temperature gradient between the isthmus and ampulla of pig oviducts during the phase of sperm storage. *Journal of reproduction and fertility*. 1986 Jul 1;77(2):599-606.

- 72. Iwamoto T, Tsang A, Luterman M, Dickson J, de Lamirande E, Gagnon C, Okuno M, Mohri H.** Purification and characterization of a sperm motility-dynein ATPase inhibitor from boar seminal plasma. *Molecular reproduction and development*. 1992 Jan 1;31(1):55-62.
- 73. Jankevičiūtė N, Žilinskas H.** Influence of some factors on semen quality of different breeds of boars. *Veterinarija ir zootechnika*. 2002;19(41):15-9.
- 74. Jara M, Carballada R, Esponda P.** Age-induced apoptosis in the male genital tract of the mouse. *Reproduction*. 2004 Mar 1;127(3):359-66.
- 75. JJ, F., & McCoard, T. H.** Genetic variation in sperm production.
- 76. Johnson LA, Weitze KF, Fiser P, Maxwell WM.** Erratum to “Storage of boar semen”:[*Anim. Reprod. Sci.* 62 (2000) 143–172]. *Animal reproduction science*. 2000 Dec 1;64(1):133-4.
- 77. Jonakova V, Maňásková P, Ticha M.** Separation, characterization and identification of boar seminal plasma proteins. *Journal of Chromatography B*. 2007 Apr 15;849(1):307-14.
- 78. Jotanović S.** Fertilitet krmača sa različitim intervalom zalučenja – estrus. (Magistarska teza). *Poljoprivredni fakultet, 2000 Novi Sad*.
- 79. Jovičin M, Milovanović A, Stančić B, Došen R, Barna T.** Uticaj aklimatizacije i životnog doba na kvalitet sperme uvoznih nerastova. *Arhiv veterinarske medicine*, (2008). 69-83.
- 80. Jovičin M.** Ispitivanje uticaja stepena oštećenja akrozoma spermatozoida bika na koncepciju osemenjenih junica (Doktorska disertacija). 1991 Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine.
- 81. Juonala T, Lintukangas S, Nurttila T, Andersson M.** Relationship between semen quality and fertility in 106 AI-boars. *Reproduction in Domestic Animals*. 1998 Jun;33(3-4):155-8.
- 82. Juyena NS, Stelletta C.** Seminal plasma: an essential attribute to spermatozoa. *Journal of andrology*. 2012 Jul 8;33(4):536-51.
- 83. Katanić N.** Fertilizacioni kapacitet native i razređene sperme nerastova (Magistarska teza) (2004). *Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet*.
- 84. Kemp B, Soede NM.** Relationship of weaning-to-estrus interval to timing of ovulation and fertilization in sows. *Journal of Animal Science*. 1996 May 1;74(5):944-9.
- 85. Kennedy BW, Wilkins JN.** Boar, breed and environmental factors influencing semen characteristics of boars used in artificial insemination. *Canadian Journal of Animal Science*. 1984 Dec 1;64(4):833-43.

- 86. Khalifa T, Rekkas C, Samartzi F, Lymberopoulos A, Kousenidis K, Dovenski T.** Highlights on artificial insemination (AI) technology in the pigs. *Macedonian Veterinary Review*. 2014 Mar 1;37(1):5-34.
- 87. KING'ORI A.** The Breeding Boar–Maximizing Productivity. *International Journal of livestock Research*. 2012 Sep;2(3):7-14.
- 88. Knox RV, Breen SM, Willenburg KL, Roth S, Miller GM, Ruggiero KM, Rodriguez-Zas SL.** Effect of housing system and boar exposure on estrus expression in weaned sows. *Journal of animal science*. 2004 Oct 1;82(10):3088-93.
- 89. Knox RV.** Practicalities and pitfalls of semen evaluation. *Advances in Pork production*. 2004;15:315-22.
- 90. Knox RV.** The anatomy and physiology of sperm production in boars. Published in the website: www.ansci.uiuc.edu/extension/swinerepronet/Ext-Pub/BoarA&P.pdf. 2003.
- 91. Koketsu Y.** High-performing swine herds improved their reproductive performance differently from ordinary herds for five years. *Journal of animal science*. 2007 Nov 1;85(11):3110-5.
- 92. Koketsu Y.** Longevity and efficiency associated with age structures of female pigs and herd management in commercial breeding herds. *Journal of animal science*. 2007 Apr 1;85(4):1086-91.
- 93. Koketsu Y.** Six component intervals of nonproductive days by breeding-female pigs on commercial farms. *Journal of animal science*. 2005 Jun 1;83(6):1406-12.
- 94. Kommisrud E, Paulenz H, Sehested E, Grevle IS.** Influence of boar and semen parameters on motility and acrosome integrity in liquid boar semen stored for five days. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2002 Mar;43(1):49.
- 95. Kondracki S, Wysokińska A, Kowalewski D, Muczyńska E, Adamiak A.** Season's influence on the properties of male domestic pig semen. *Rozprawy naukowe Pope John Paul II State School of Higher Vocational Education in Biała Podlaska*. 2009;3:177-87.
- 96. KOVAČ M, MALOVRH Š.** Prednosti in slabosti o semenjevanja. Spremljanje proizvodnosti prašičev, IV. del. Urednici: Kovač M., Malovrh Š. Izdavač: Domžale, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Enota za prašičerejo, biometrijo in selekcijo. 2005:5-18.
- 97. Kovčič S, Pejin B, Stanačev V, Stančić B, Korovljev Z.** Uticaj ishrane krmača u prvoj fazi suprasnosti na veličinu legla i telesnu masu prasadi. *Međunarodni Simpozijum: „Stočarstvo,*

veterinarstvo i ekonomika u proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane, Herceg Novi, 22. – 29. jun, 2008., Zbornik kratkih sadržaja, str. 88, 2008.

98. Kozdrowski R, Dubiel A. The effect of season on the properties of wild boar (*Sus scrofa* L.) semen. *Animal reproduction science*. 2004 Feb 1;80(3-4):281-9.

99. Kunavongkrit A, Suriyasomboon A, Lundeheim N, Heard TW, Einarsson S. Management and sperm production of boars under differing environmental conditions. *Theriogenology*. 2005 Jan 15;63(2):657-67.

100. Kunowska-Słószarz MA, Makowska AN. Effect of breed and season on the boars semen characteristics. *Annals of Warsaw University of Life Sciences–SGGW, Animal Science*. 2011;49:77-86.

101. Kuster C. Sperm concentration determination between hemacytometric and CASA systems: why they can be different. *Theriogenology*. 2005 Aug 1;64(3):614-7.

102. Kyriazakis I, Whittemore C. Appetite and voluntary feed intake. *Whittemore's Science and Practice of Pig Production*. 2006 Jan 4:417-37.

103. Lapuste C, Diaconescu S, Hincu M, Pascoveanu G. Influence of Season on the Quantity and Quality of Boar Semen. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*. 2011 May 31;44(1):270-2.

104. Le Cozier Y, Dagorn J, Dourmad JY, Johansen S, Aumaître A. Effect of weaning-to-conception interval and lactation length on subsequent litter size in sows. *Livestock Production Science*. 1997 Nov 1;51(1):1-1.

105. Leahy T, Marti JI, Evans G, Maxwell WM. Seminal plasma proteins protect flow-sorted ram spermatozoa from freeze–thaw damage. *Reproduction, Fertility and Development*. 2009 May 7;21(4):571-8.

106. Liao CW, Shen TF, Chyr SC. Monthly change of the semen characteristics of Duroc-Jersey boar. *Journal of Taiwan Livestock Research*. 1996;29:137-44.

107. LIPENSKÝ J, Lustykova A, ČEŘOVSKÝ J. Effect of season on boar sperm morphology. *Journal of Central European Agriculture*. 2010;11(4).

108. Lipenský J, Lustyková A, Frydrychová S, Rozkot M, Václavková E. Influence of different extenders, dilution rate and storage time on Boar sperm progressive motility. *Research in Pig Breeding*. 2013;7(2):38-42.

- 109. Logar B, Kovač M, Malovrh Š.** Estimation of genetic parameters for litter size in pigs from different genetic groups. *Acta Agraria Kaposváriensis*. 1999;3(2):135-43.
- 110. López Rodríguez A, Rijsselaere T, Beek J, Vyt P, Van Soom A, Maes D.** Boar seminal plasma components and their relation with semen quality. *Systems biology in reproductive medicine*. 2013 Feb 1;59(1):5-12.
- 111. Lopez Rodriguez A.** *Fresh boar semen: quality control and production* (Doctoral dissertation, Ghent University).
- 112. López MR.** Low reproductive performance and high sow mortality in a pig breeding herd: a case study. *Irish veterinary journal*. 2008 Dec;61(12):818.
- 113. Louis GF, Lewis AJ, Weldon WC, Miller PS, Kittok RJ, Stroup WW.** The effect of protein intake on boar libido, semen characteristics, and plasma hormone concentrations. *Journal of animal science*. 1994 Aug 1;72(8):2038-50.
- 114. Lymberopoulos AG, KHALIFA T.** Impact of Storage and Purification on Mitochondrial Membrane Potential of Boar Spermatozoa. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*. 2013 May 31;46(1):58-64.
- 115. Madej M, Hansen C, Johannisson A, Madej A.** Heparin-binding proteins from boar seminal plasma affecting the release of prostaglandins and interleukin-6 by porcine endometrial and cervical cells and bovine endometrial cells. *Natural Science*. 2013 Jul 2;5(07):21.
- 116. Maes D, Lopez Rodriguez A, Rijsselaere T, Vyt P, Van Soom A.** Artificial insemination in pigs. In *Artificial insemination in farm animals 2011* (pp. 79-94). In-Tech.
- 117. Maes D, Nauwynck H, Rijsselaere T, Mateusen B, Vyt P, de Kruif A, Van Soom A.** Diseases in swine transmitted by artificial insemination: an overview. *Theriogenology*. 2008 Nov 1;70(8):1337-45.
- 118. Marin-Guzman J, Mahan DC, Chung YK, Pate JL, Pope WF.** Effects of dietary selenium and vitamin E on boar performance and tissue responses, semen quality, and subsequent fertilization rates in mature gilts. *Journal of Animal Science*. 1997 Nov 1;75(11):2994-3003.
- 119. Maxwell WM, De Graaf SP, Ghaoui RE, Evans G.** Seminal plasma effects on sperm handling and female fertility. *Society of Reproduction and Fertility supplement*. 2007 Apr 1;64:13.

- 120. Maxwell WM, Johnson LA.** Physiology of spermatozoa at high dilution rates: the influence of seminal plasma. *Theriogenology*. 1999 Dec 1;52(8):1353-62.
- 121. Milovanović A, Barna T, Maksimović N, Vasiljević T, Milanov D, Bošković N.** Import of boars: Semen quality control and possibility of complaints. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2012;28(4):759-69.
- 122. Milovanović A, Barna T, Milanov D, Lazarević M.** Model saradnje repro-centara i laboratorije za reprodukciju u kontroli kvaliteta semena nerastova. *Arhiv veterinarske medicine*. 2013;6(1):57-70.
- 123. Мицковски, Ѓ.** Физиологија и патологија на Репродукцијата. Ветеринарен институт : Ветеринарен факултет, Скопје,(2000).
- 124. Mogielnicka-Brzozowska M, Kordan W.** Characteristics of selected seminal plasma proteins and their application in the improvement of the reproductive processes in mammals. *Polish journal of veterinary sciences*. 2011 Sep 1;14(3):489-99.
- 125. Muiño-Blanco T, Pérez-Pé R, Cebrián-Pérez JA.** Seminal plasma proteins and sperm resistance to stress. *Reproduction in domestic animals*. 2008 Oct 1;43(s4):18-31.
- 126. Nikolov I, Baičev Ž, Šbev M, Kazački D, Stefanov R, Prvanov P.** Biologičen kontrol i sahranjavanje na sperma od selskostopanski razplodnici. *Videnovi i sin*. 2012 Sofija.
- 127. Nocella, G., Hubbard, L., & Scarpa, R.** (2010). Farm animal welfare, consumer willingness to pay, and trust: Results of a cross-national survey. *Applied economic perspectives and policy*, 32(2), 275-297.
- 128. Novak S, Ruiz-Sánchez A, Dixon WT, Foxcroft GR, Dyck MK.** Seminal plasma proteins as potential markers of relative fertility in boars. *Journal of Andrology*. 2010 Mar 4;31(2):188-200.
- 129. Okazaki T, Abe S, Yoshida S, Shimada M.** Seminal plasma damages sperm during cryopreservation, but its presence during thawing improves semen quality and conception rates in boars with poor post-thaw semen quality. *Theriogenology*. 2009 Feb 28;71(3):491-8.
- 130. Okere C, Joseph A, Ezekwe M.** Seasonal and genotype variations in libido, semen production and quality in artificial insemination boars. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2005;4(10):885-8.

- 131. O'leary S, Jasper MJ, Warnes GM, Armstrong DT, Robertson SA.** Seminal plasma regulates endometrial cytokine expression, leukocyte recruitment and embryo development in the pig. *Reproduction*. 2004 Aug 1;128(2):237-47.
- 132. O'Leary S, Robertson SA, Armstrong DT.** The influence of seminal plasma on ovarian function in pigs—a novel inflammatory mechanism?. *Journal of reproductive immunology*. 2002 Oct 1;57(1-2):225-38.
- 133. Oliveira JB, Petersen CG, Mauri AL, Vagnini LD, Baruffi RL, Franco Jr JG.** The effects of age on sperm quality: an evaluation of 1,500 semen samples. *JBRA Assist Reprod*. 2014;18:34-41.
- 134. Park S.** Effects of sow, boar, and semen traits on sow reproduction. 2013
- 135. Perez-Llano B, Lorenzo JL, Yenes P, Trejo A, Garcia-Casado P.** A short hypoosmotic swelling test for the prediction of boar sperm fertility. *Theriogenology*. 2001 Aug 1;56(3):387-98.
- 136. Petrović M, Vuković V, Trivunović S, Radojković D.** Estimation of phenotypic and genetic variability of the litter size and breeding value of boars. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2000;16(5/6):17-24.
- 137. Petrović M.** Uticaj sezone, starosti nerastova i krmača pri oplodnji na veličinu legla. 1990
PIC Sires: Boar Stud Management Manual, pp. 1-58, March, 2013. <http://PIC Boar Stud Management Manual 2013>.
- 138. Pierzchała M, Pareek CS, Kurył J.** Use of modern genetics achievements for improvement of pork quality—A review. *Polish journal of food and nutrition sciences*. 2006;15(56):4.
- 139. Поповски, К.** Применета ендокринологија во репродукцијата, (2001) Скопје.
- 140. Popwell JM, Flowers WL.** Variability in relationships between semen quality and estimates of in vivo and in vitro fertility in boars. *Animal reproduction science*. 2004 Mar 31;81(1):97-113.
- 141. Quintero-Moreno A, Rigau T, Rodriguez-Gil JE.** Regression analyses and motile sperm subpopulation structure study as improving tools in boar semen quality analysis. *Theriogenology*. 2004 Feb 1;61(4):673-90.

- 142. Radojković D, Petrović M, Mijatović M, Radović Č.** Phenotypic variability of fertility traits of pure breed sows in first three farrowings. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2007;23(3-4):41-50.
- 143. Radojković D, Petrović M, Mijatović M, Radović I.** Fenotipska i genetska povezanost osobina plodnosti plotkinja švedskog landrasa. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2005;21:3-4.
- 144. Radović I, Dragin S, Stančić I, Stančić B, Cincović M, Božić A.** Reproductivna performansa prvopraskinja i krmača u zavisnosti od pariteta i intervala zalučenja – estrus. *21. Međunarodni Simpozijum »Stočarstvo, veterinarska medicina i ekonomika u ruralnom razvoju i proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane«, Divčibare, 20. – 27. Jun, 2010. Zbornik kratkih sadržaja, str. 66, 2010.*
- 145. Radović I, Dragin S, Stančić I.** Spermatozoidi nerasta u ženskom reproduktivnom traktu (pregled). *Letopis naučnih radova, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, 30(1)90-99, 2006.*
- 146. Radovic I, Stancic B, Popov R, Trivunovic S, Teodorovic M.** Reproductive performances of the first litter sows and sows in the higher parities. *Savremena poljoprivreda (Serbia)*. 2006.
- 147. Robertson SA, Sharkey DJ.** The role of semen in induction of maternal immune tolerance to pregnancy. In *Seminars in immunology 2001 Aug 31 (Vol. 13, No. 4, pp. 243-254)*. Academic Press.
- 148. Robinson JA, Buhr MM.** Impact of genetic selection on management of boar replacement. *Theriogenology*. 2005 Jan 15;63(2):668-78.
- 149. Roca J, Carvajal G, Lucas X, Vazquez JM, Martinez EA.** Fertility of weaned sows after deep intrauterine insemination with a reduced number of frozen-thawed spermatozoa. *Theriogenology*. 2003 Jun 30;60(1):77-87.
- 150. Rocha DR, Martins JA, van Tilburg MF, Oliveira RV, Moreno FB, Monteiro-Moreira AC, Moreira RA, Araújo AA, Moura AA.** Effect of increased testicular temperature on seminal plasma proteome of the ram. *Theriogenology*. 2015 Nov 30;84(8):1291-305.
- 151. Rodríguez AL, Van Soom A, Arsenakis I, Maes D.** Boar management and semen handling factors affect the quality of boar extended semen. *Porcine health management*. 2017 Dec;3(1):15.
- 152. Rodríguez AL.** Fresh boar semen: quality control and production. Doctoraatsthesis Faculteit Diergeneeskunde, Gent. 2012 Mar 29.

- 153. Rodríguez-Martínez H, Kvist U, Ernerudh J, Sanz L, Calvete JJ.** Seminal plasma proteins: what role do they play?. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2011 Jul;66:11-22.
- 154. Rodriguez-Martinez H.** Semen evaluation techniques and their relationship with fertility. *Anim Reprod*. 2013 Jul 1;10(3):148-59.
- 155. Rothschild MF, Ruvinsky A.** (Eds.). *The genetics of the pig*. (2011).CABI.
- 156. Rozeboom K.** Improving fertility with seminal plasma. *Swine News*. 2000;23:15-7.
- 157. Safranski TJ.** Genetic selection of boars. *Theriogenology*. 2008 Nov 1;70(8):1310-6.
- 158. Samuelson, D. A.** Textbook veterinary histology, Copiright by Saunders, an imprint of Elsevier Inc (2007).
- 159. Sancho S, Pinart E, Briz M, Garcia-Gil N, Badia E, Bassols J, Kadar E, Pruneda A, Bussalleu E, Yeste M, Coll MG.** Semen quality of postpubertal boars during increasing and decreasing natural photoperiods. *Theriogenology*. 2004 Oct 1;62(7):1271-82.
- 160. Sancho S, Rodriguez-Gil JE, Pinart E, Briz M, Garcia-Gil N, Badia E, Bassols J, Pruneda A, Bussalleu E, Yeste M, Casas I.** Effects of exposing boars to different artificial light regimens on semen plasma markers and “in vivo” fertilizing capacity. *Theriogenology*. 2006 Jan 20;65(2):317-31.
- 161. Savić R, Petrović M, Radojković D, Radović Č, Parunović N, Popovac M, Gogić M.** Ejaculate properties and reproductive efficiency of large White boars during exploitation. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2015;31(3):397-405.
- 162. Savić R, Petrović M, Radojković D, Radović Č, Parunović N.** The effect of breed, boar and season on some properties of sperm. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2013;29(2):299-310.
- 163. Savić RR.** *Fenotipska i genetska varijabilnost plodnosti nerasta* (Doctoral dissertation, Univerzitet u Beogradu-Poljoprivredni fakultet).
- 164. Savić, R., Petrović, M., Radojković, D., Radović, Č., Parunović, N., Pušić, M., & Radišić, R.** (2013). Variability of ejaculate volume and sperm motility depending on the age and intensity of utilization of boars. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 29(4), 641-650.
- 165. Schwarz T, Nowicki J, Tuz R.** Reproductive performance of Polish Large White sows in intensive production: effect of parity and season. *Ann. Anim. Sci.* 2009 Jan 1;9(3):269-77.
- 166. See T.** Genetic selection for AI traits. *Swine News*, 25(6)1-6, 2002.

167. Šerniene L, Riškevičiene V, Banys A, Žilinskas H. Effects of age, and season on sperm qualitative parameters in lithuanian white and petren boars. *Veter. ir Zoot.* 2002;17(39).
168. Setchell PB. The Parkers Lecture: Heat and the testis. *J. Reprod. Fert.*, 1998, 114:179-194.
169. Shipley CF. Breeding soundness examination of the boar. *Journal of Swine Health and Production.* 1999 May 1;7(3):117-20.
170. Shirali M. Improvement of energy and nitrogen utilisation in pork production: genetics and growth models. Wageningen University; 2014.
171. Singelton WL. State of the art in artificial insemination in the United States. *Theriogenology*, 56: 1305. 2001;1310.
172. Smital J, De Sousa LL, Mohsen A. Differences among breeds and manifestation of heterosis in AI boar sperm output. *Animal reproduction science.* 2004 Jan 1;80(1-2):121-30.
173. Smital J. Effects influencing boar semen. *Animal Reproduction Science.* 2009 Feb 1;110(3-4):335-46.
174. Smital J. Comparison of environmental variations in boar semen characteristics of six breeds and their crossbreds over an eight-year period. *Research in pig breeding.* 2010;4(1):26-32.
175. Spronk GD, Kerkaert BR, Bobb JD, Kennedy GF. Managing the Breeding Herd. *International Pig Topics*, 1997, 12(7)7-11.
176. Stančić B, Božić A, Stančić I, Dragin S, Radović I, Erdeljan M. Effect of season and boars breed on ejaculate quality. *Savremena poljoprivreda/Contemporary agriculture.* 2013.
177. Stančić B, Božić A, Stančić I, Dragin S, Radović I, Petrović M. Effects of worm and cold period of the year on boar semen quality parameters. *Savremena poljoprivreda/Contemporary agriculture.* 2012.
178. STANČIĆ B, BOŽIĆ A, STANČIĆ I, RADOVIĆ I, DRAGIN S. Sow seasonal infertility. *CONTEMPORARY AGRICULTURE SAVREMENA POLJOPRIVREDA.* 2011:195.
179. Stančić, B., Božić, A., Stančić, I., Harvey, R.B., Radović, I., Anderson, R.C., Dragin, S., Erdeljan, M., Jotanović, S.: The possibility of increasing AI boars reproductive exploitation in AP Vojvodina (Serbia). 22nd *International symposium »Food safety production«, Trebinje, Bosnia and Herzegovina, 19–25 June, 2011. Pp.66-69, 2011.*
180. STANČIĆ B, Gagrčin M, & Radović I. Uticaj godišnje sezone, rase i starosti nerastova na kvalitet sperme. 1. Nativna sperma. *Biotechnology in Animal Husbandry*, (2003). 19(1-2), 17-23.

- 181. Stancic B, Gagrcin M, Stancic J, Stevancevic M, Potkonjak A.** Infective and non-infective etiology of sow infertility. *Contemporary agriculture*. 2010.
- 182. Stančić B, Grafenau P, Pivko J, Gagrcin M.** Influence of dilution rate and preservation time on the boar sperm quality. InProc. XVIII Int. Conf. Farm Anim. Reprod. Liptovsky Jan (Slovakia) 2002 May 30 (pp. 110-112).
- 183. Stancic B, Radovic I, Bozic A, Gagrcin M, Anderson R.** Sow fertility after conventional AI with insemination doses of various volumes and spermatozoa number. *Contemporary Agriculture*. 2009.
- 184. Stančić B, Radović I, Gagrcin M.** Interval zalučenje-estrus i njegov uticaj na fertilitet krmača. 2000.
- 185. Stancic B, Radovic I.** Postlactational estrus duration and optimal AI-timing for sows. *Biotehnologija u stocarstvu*. 2004.
- 186. Stančić B.** Faktori koji utiču na neke parametre reproduktivne performanse krmača (pregled). *Veterinarski glasnik (Bgd.)*, 48(5-6)407-415, 1994.
- 187. Stančić B. I.** Reprodukcijska domaćih životinja, Poljoprivredni fakultet, (2014), Novi Sad.
- 188. Stančić B.** Kvalitet sperme nerastova na vojvođanskim farmama. *Biotechnology in animal*. 2002.
- 189. Stančić B.** Reprodukcijska svinja (monografija). *Poljoprivredni fakultet, Novi Sad*, 2005.
- 190. Stančić B.** Tehnologija veštačkog osemenjavanja svinja (monografija). Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet. 2006.
- 191. Stančić B.** Savremeni principi tehnologije veštačkog osemenjavanja svinja (pregled). 3. Simpozijum» Uzgoj i zaštita zdravlja svinja «. Vršac, 21. do 23. juni, 2000. Zbornik radova, str. 35. 2000 Jun;41.
- 192. Stančić BL, Gagrcin M, Radović I.** Uticaj godišnje sezone, rase i starosti nerastova na kvalitet sperme. 1. Nativna sperma. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2003;19(1-2):17-23.
- 193. Stančić BL, Šahinović RH.** Biotehnologija u reprodukciji svinja. Poljoprivredni fakultet; 1998.
- 194. Stančić BL.** Interval zalučenje-estrus u krmača 1: Faktori koji određuju trajanje ovog intervala. *Veterinarski glasnik*. 1997a;51(3-4):109-18.
- 195. Stančić BL.** Interval zalučenje-estrus u krmača 2: Uticaj trajanja ovog intervala na vrednost prašenja i veličinu legla. *Veterinarski glasnik*. 1997b;51(3-4):119-26.

- 196. Stančić I, Apić J, Radović I, Dragin S, Božić A, Žarković I, Stančić B.** Influence of season, boars breed and age on protein content variation in seminal plasma. *Cont Agri (Novi Sad, Srb.)* 2015, 64(3-4)120-6.- po vancouver.
- 197. Stančić I, Apić J, Radović I, Stančić B, Erdelijan M, Božić A, Žarković I.** Reproductive exploitation of AI boars on the intensive farm units in AP Vojvodina (Serbia) (2014). *Four issues in two volumes per year/Četiri broja u dva volumena godišnje. Cirrculation 200 copies/Tiraž 200 primeraka.*, 388.
- 198. Stancic I, Dragin S, Stankovic B, Jotanovic S.** Effect of protein contents in seminal plasma on sperm motility in diluted boar semen. *InProc. 1st International Symposium on Animal Science 2012 Nov 8* (pp. 149-154).
- 199. Stančić I, Gagrčin M, Apić J, Dragin S.** Estrusno reagovanje krmača tretiranih sa PMSG posle zalučjenja u toplom i hladnom periodu godine. 21. Međunarodni S i m p o z i j u m »Stočarstvo, veterinarska medicina i ekonomika u ruralnom razvoju i proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane«, Divčibare, 20. – 27. jun, 2010. Zbornik kratkih sadržaja, str. 71, 2010.
- 200. Stančić I, Stančić J, Apić I.** Poremećaji reprodukcije krmača infektivne etiologije. *XV Savetovanje o biotehnologiji (sa međunarodnim učešćem). Čačak, 04. – 05. mart, 2011. Zbornik radova, 16(18)255-260, 2011.*
- 201. STANČIĆ IB, DRAGIN SB.** Modern technology of artificial insemination in domestic animals. *CONTEMPORARY AGRICULTURE SAVREMENA POLJOPRIVREDA.* 2011:204.
- 202. STANČIĆ J, GAGRČIN M, DRAGIN S.** Seasonal differences in sow reproductive performances. *CONTEMPORARY AGRICULTURE SAVREMENA POLJOPRIVREDA.* 1990;48:36.
- 203. Stančić, B., Radović, I., Stančić, i., Gagrčin, M., Božić, A., Kragić, S., Grafenau, P. Jr., Chrenek, P., Pivko J.:** Fertilitet krmača posle intracervikalne I intrauterine inseminacije dozama redukovanog volumena. *Biotechnology in animal husbandry, 22 (special issue)273-281,2006*
- 204. Stančić, B.:** Reprodukcijska životinja (osnovni udžbenik). *Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, 2008.*
- 205. Strzezek J, Wysocki P, Kordan W, Kuklinska M, Mogielnicka M, Soliwoda D, Fraser L.** Proteomics of boar seminal plasma—current studies and possibility of their application in biotechnology of animal reproduction. *Reprod Biol.* 2005 Nov;5(3):279-90.

- 206. Suarez M, SUSANNE H, Braun J, Graser HU.** Genetic Parameters of reproductive traits recorded at different parities in Landrace and Large White sows. InAGBU Pig Genetics Workshop 2004.
- 207. Surai PF, Fisinin VI.** Selenium in Pig Nutrition and reproduction: Boars and semen quality—A Review. *Asian-Australasian journal of animal sciences.* 2015 May;28(5):730.
- 208. Suriyasomboon A.** Herd investigations on sperm production in boars, and sow fertility under tropical conditions-with special reference to season, temperature, and humidity. 2005.
- 209. Sutkevičienė N, Žilinskas H.** Sperm morphology and fertility in artificial insemination boars. *AGE.* 2004;18(5.59):8.
- 210. Szostak B, Przykaza Ł.** The influence of breed, age of boars and exploitation season on their libido in conditions of the insemination station. *Journal of Central European Agriculture.* 2011 Jul 19;12(1).
- 211. Šerniene L, Riškevičiene V, Banys A, Žilinskas H.** Effects of age, and season on sperm qualitative parameters in lithuanian white and petren boars. *Veter. ir Zoot.* 2002;17(39).
- 212. Tanaka Y, Koketsu T.** A survey of reproductive performance and growth performance of pigs on commercial farrow-to-finnish swine farms. *J. Vet. Epid.,* 2007;11(1):18-22.
- 213. Teixeira DA, Melo LM, Gadelha CA, Cunha RM, Bloch Jr C, Rádis-Baptista G, Cavada BS, Freitas VJ.** Ion-exchange chromatography used to isolate a spermadhesin-related protein from domestic goat (*Capra hircus*) seminal plasma. *Genet. Mol. Res.* 2006 Mar 31;5(1):79-87.
- 214. Ten Napel J, Meuwissen TH, Johnson RK, Brascamp EW.** Genetics of the interval from weaning to estrus in first-litter sows: correlated responses. *Journal of animal science.* 1998 Apr 1;76(4):937-47.
- 215. Timotijević M, Stančić B, Gagrčin M.** Postlaktacijsko estrusno reagovanje i fertilitet krmača (monografija). *Poljoprivredni fakultet, 2003 Novi Sad.*
- 216. Todd S.** Managing the sow for optimum productivity. North Carolina State University, Department of Animal Science Raleigh. 2000:27695-7621.
- 217. Tomiyama M, Oikawa T, Arakane T, Kanetani T, Mori H.** Analysis of environmental effects in production and reproduction traits of purebred Berkshire in Japan. *Research Journal of Animal Sciences.* 2008;2(6):157-63.

- 218. Töpfer-Petersen E, Romero A, Varela PF, Ekhlasi-Hundrieser M, Dostalova Z, Sanz L, Calvete JJ.** Spermadhesins: a new protein family. Facts, hypotheses and perspectives. *Andrologia*. 1998 Aug 9;30(4-5):217-24.
- 219. Trujillo-Ortega ME, Mota-Rojas D, Olmos-Hermández A.** A study of piglets born by spontaneous parturition under uncontrolled conditions: could this be a naturalistic model for the study of intrapartum asphyxia?. *Acta Bio Medica Atenei Parmensis*. 2007 Apr 1;78(1):29-35.
- 220. Tsakmakidis IA, Khalifa TA, Boscos CM.** Age-related changes in quality and fertility of porcine semen. *Biological research*. 2012;45(4):381-6.
- 221. Tsakmakidis IA, Lymberopoulos AG, Khalifa TA.** Relationship between sperm quality traits and field-fertility of porcine semen. *Journal of veterinary science*. 2010 Jun 1;11(2):151-4.
- 222. Tubbs RC.** Factors that influence the weaning-to-estrus interval in sows. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. 1990;12(1):105-15.
- 223. Tummaruk P, Lundeheim N, Einarsson S, Dalin AM.** Reproductive performance of purebred Swedish Landrace and Swedish Yorkshire sows: I. Seasonal variation and parity influence. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A-Animal Science*. 2000 Sep 1;50(3):205-16.
- 224. Tummaruk P, Lundeheim N, Einarsson S, Dalin AM.** Reproductive performance of purebred Swedish Landrace and Swedish Yorkshire sows: II. Effect of mating type, weaning-to-first-service interval and lactation length. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A-Animal Science*. 2000 Sep 1;50(3):217-24.
- 225. Vanroose G, de Kruif A, Van Soom A.** Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. *Animal Reproduction Science*. 2000 Jul 2;60:131-43.
- 226. Vincek D.** Veličina legla majčinskih linija uzgojnog programa u svinjogojstvu. *Stočarstvo*. 2005 Mar 10;59(1):13-21.
- 227. Vyt P, Maes D, Quinten C, Rijsselaere T, Deley W, Aerts M, de Kruif A, Van Soom A.** Detailed motility evaluation of boar semen and its predictive value for reproductive performance in sows. 2008.
- 228. Vyt P.** Examination and storage of liquid porcine semen. *Faculty of Veterinary Medicine Ghent*. 2007;4:37-42.
- 229. Waberski D, Döhring A, Ardón F, Ritter N, Zerbe H, Schuberth HJ, Hewicker-Trautwein M, Weitze KF, Hunter RH.** Physiological routes from intra-uterine seminal contents to advancement of ovulation. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2006 Aug 3;48(1):13.

- 230. Waberski D, Magnus F, Ferreira FM, Petrunkina AM, Weitze KF, Töpfer-Petersen E.** Importance of sperm-binding assays for fertility prognosis of porcine spermatozoa. *Theriogenology*. 2005 Jan 15;63(2):470-84.
- 231. Waberski D, Meding S, Dirksen G, Weitze KF, Leiding C, Hahn R.** Fertility of long-term-stored boar semen: Influence of extender (Androhep and Kiev), storage time and plasma droplets in the semen. *Animal Reproduction Science*. 1994 Jul 1;36(1-2):145-51.
- 232. Waberski D, Töpfer-Petersen E, Weitze K.F.:** Does seminal plasma contribute to gamete interaction in the porcine female tract? *In Proc. IV Conf. Boar Semen Preservation, IV Edited by: Jihson, L.A., Guthrie, H.D. Allen Press Inc., Lawrence, K.S., USA, pp. 165-172, 2000.*
- 233. Waller CM, Bilkei G, Cameron RD.** Effect of periparturient diseases accompanied by excessive vulval discharge and weaning to mating interval on sow reproductive performance. *Australian veterinary journal*. 2002 Sep 1;80(9):545-9.
- 234. Watson PF.** Artificial insemination and the preservation of semen. *Marshall's physiology of reproduction*. 1990:747-869.
- 235. Wettemann RP, Wells ME, Johnson RK.** Reproductive characteristics of boars during and after exposure to increased ambient temperature. *Journal of Animal Science*. 1979 Dec 1;49(6):1501-5.
- 236. Whittemore C, Kyriazakis I.** Growth and body composition changes in pigs. *Whittemore's Science and Practice of Pig Production*. 2006 Jan 4:65-103.
- 237. Whittemore CT, Kyriazakis I.** *Whittemore's science and practice of pig production*. John Wiley & Sons; 2008 Apr 15.
- 238. Wierzbicki HE, Gorska IW, Macierzyńska AN, Kmiec MA.** Variability of semen traits of boars used in artificial insemination. *Medycyna Wet*. 2010;66(11):765-9.
- 239. Wilson ME, Rozeboom KJ, Crenshaw TD.** Boar nutrition for optimum sperm production. *Advances in pork production*. 2004;15:295-306.
- 240. Wilson MR, Dewey CE.** Maximizing mating efficiency. In 13. *International Pig Veterinary Society Congress, Bangkok (Thailand), 26-30 Jun 1994* 1994.
- 241. Wolf J, Smital J.** Effects in genetic evaluation for semen traits in Czech Large White and Czech Landrace boars. *Czech J. Anim. Sci*. 2009a Aug 1;54(8):349-58.
- 242. Wolf J, Smital J.** Quantification of factors affecting semen traits in artificial insemination boars from animal model analyses. *Journal of animal science*. 2009b May 1;87(5):1620-7.

243. Young B, Dewey CE, Friendship RM. Management factors associated with farrowing rate in commercial sow herds in Ontario. *The Canadian Veterinary Journal*. 2010 Feb;51(2):185.

244, Zhu J. Boar Seminal Plasma Components and Fertilization (Master of Science Thesis). University of Alberta, Department of Agriculture,

Food and Nutritional Science, 2000.