

3
4
5 IZVEŠTAJ O OCENI ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

6
7 I PODACI O KOMISIJI:

8
9 1. Datum i naziv organa koji je imenovao komisiju: 25. 05. 2016. god., Nastavno-naučno
10 veće Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, 168. sednica.

11
12 2. Sastav komisije sa naznakom imena i prezimena svakog člana, zvanja, naziva uže
13 naučne oblasti za koju je izabran u zvanje, godinom izbora u zvanje i naziv fakulteta,
14 ustanove u kojoj je član komisije zaposlen:

15
16 dr Slobodanka Vakanjac, vanredni profesor, Ginekologija sa andrologijom, 2011. god.,
17 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

18
19 dr Dragan Šefer, redovni profesor, Ishrana domaćih životinja, 2014, Fakultet veterinarske
20 medicine Univerziteta u Beogradu

21
22 dr Miodrag Lazarević, redovni profesor, Fiziologija, 2002. god., Fakultet veterinarske medicine
23 Beograd Univerziteta u Beogradu

24
25 dr Vojislav Pavlović, redovni profesor, Ginekologija sa andrologijom, 2002, god., Fakultet
26 veterinarske medicine Beograd

27
28 dr Aleksandar Milovanović, naučni saradnik, Reprodukcijska domaćih životinja 2015, Naučni
29 institut za veterinarstvo, Novi Sad.

30
31 II PODACI O KANDIDATU:

32
33 1. Ime, ime jednog roditelja, prezime: Goran Radan Jakovljević

34
35 2. Datum rođenja, opština, Republika: 07.11.1965.god, Kraljevo, Srbija

36
37 3. Datum odbrane, mesto i naziv magistarske teze*: 16.07.2004, Beograd, "Ispitivanje
38 fertilitne sposobnosti semena mladih bikova pod uticajem paragenetskih faktora"

39
40 4. Naučna oblast iz koje je stečeno akademsko zvanje magistra nauka*:
41 Reprodukcijska domaćih životinja

42
43
44 III NASLOV DOKTORSKE DISERTACIJE: „Uticaj teških metala iz hrane i vode na
45 kvalitet duboko zamrznutog semena bika“

46
47 IV PREGLED DOKTORSKE DISERTACIJE (navesti broja strana poglavlja, slika, šema,
48 grafikona i sl.):

49
50 Doktorska disertacija je napisana na 117 stranica i sadrži sledeća poglavlja: Uvod (3 strane),
51 Pregled literature (30 strana), Cilj i zadaci istraživanja (1 strana), Materijal i metode rada (10
52 strana), Rezultati istraživanja (28 strane), Diskusija (31 strana), Zaključci (2 strane) i spisak
53 literature (12 strana). Doktorska disertacija je dokumentovana sa 50 tabela, 38 grafikona i 3
54 slike. Na početku teze se nalazi kratak sadržaj na srpskom i engleskom jeziku.

1 **V VREDNOVANJE POJEDINIH DELOVA DOKTORSKE DISERTACIJE (dati kratak opis**
2 **svakog poglavlja disertacije: uvoda, pregleda literature, cilja i zadataka istraživanja,**
3 **materijal i metoda, rezultata, diskusije, spiska referenci):**

4 U **Uvodu** kandidat daje kratak pregled podele mineralnih materija u biljnom i životinjskom
5 svetu, način unošenja i njihove uloge u organizmu i ističe da je najmanje deset
6 mikroelemenata neophodno u ishrani domaćih životinja. Oni su regulatori osmotskog pritiska,
7 elektrohemijske reakcije krvi, limfe i telesnih tečnosti i propustljivosti ćelijskih membrana,
8 ulaze u sastav kostiju i zuba, učestvuju u sintezi hormona, vitamina i enzima. Poseban značaj
9 reprodukciji ima cink što proizilazi iz činjenice da je on značajna komponenta ili aktivator
10 enzima uključenih u sintezu polnih steroida. Različiti antropogeni zagađivači (olovo,
11 kadmijum, živa, arsen i dr), mogu uticati na funkcije reproduktivnog trakta i na kvalitet sperme
12 životinja i ljudi. Svojim prisustvom u hrani i vodi, teški metali dovode do različitih poremećaja
13 velikog broja funkcija organizma uključujući i smanjenje kvaliteta ejakulata.

14 Poglavlje **Pregled literature** je podeljeno na šest podpoglavlja. U prvom podpoglavlju
15 kandidat opisuje sastav sperme bikova i navodi da je ona složena i specifična po svom
16 sastavu, a sastoji se od semene plazme i spermatozoida. Semena plazma je proizvod
17 akcesornih polnih žlezda i sprovodnih puteva muškog genitalnog trakta i ima izraženu
18 varijabilnost u pogledu prisustva i koncentracije pojedinih sastojaka. Kandidat opisuje da se
19 semena plazma sastoji od neorganskih i organskih sastojaka. Od neorganskih sastojaka,
20 kojih ima oko 0,9%, dokazano je prisustvo Na, K, Mg, Ca, Zn, Mn, Cu, Cl, Fe, sulfata, fosfata i
21 bikarbonata. Od organskih sastojaka u seminalnoj plazmi se nalaze ugljeni hidrati, proteini i
22 masti. U drugom podpoglavlju, kandidat detaljno opisuje izgled, građu i sastav spermatozoida
23 bika. Zreo spermatozoid bika se sastoji od glave, srednjeg dela i repa. Na glavi
24 spermatozoida se nalazi akrozom koji sadrži specifične enzime: akrozin, hijaluronidazu, kiselu
25 fosfatazu, arilamidazu, arilsulfatazu A i aspartat-arilamidazu koji omogućavaju prodiranje u
26 jajnu ćeliju. Glavni funkcionalni delovi repa su: aksonema, mitohondrijski procep, prateća
27 vlakna (ogrtiči) i fibrilarna ovojnica. Njihova osnovna uloga je u kretanju spermatozoida. U
28 trećem podpoglavlju kandidat opisuje proces spermatogeneze koji se odvija u izuvijanim
29 semenim kanalčićima i obično se može podeliti u četiri faze. Prva faza je mitotička deoba
30 spermatogonija, druga faza je mejotička deoba spermatocita, treća faza je deoba sekundarnih
31 spermatocita (II mejotička deoba) i četvrta faza je metamorfoza (transformacija) spermatida u
32 zrele spermatozoide. U četvrtom podpoglavlju kandidat navodi vrste patoloških promena na
33 spermatozoidima. Svaki ejakulat sadrži i određeni procenat patološki promenjenih
34 spermatozoida, a smanjena plodnost nastaje pri znatnom povećanju broja patoloških formi.
35 Tada se govori o terato-zoospermiji, a promenjeni spermatozoidi nisu sposobni za oplodnju.
36 Postoje primarni defekti, koji nastaju u toku spermatogeneze u klicinom epitelu, ali treba
37 praviti razliku između nespecifičnih i specifičnih promena. Sekundarni defekti nastaju pri
38 prolasku spermatozoida u lumen *tubula contorti*, u toku transporta i epididimalnog sazrevanja
39 i nagomilavanja u repu pasemenika. Dok tercijarne promene nastaju posle izlaska
40 spermatozoida u spoljašnju sredinu i najčešće su posledica pogrešnih manipulacija
41 ejakulatom. U petom podpoglavlju, kandidat navodi osnovne parametre kvaliteta ejakulata
42 bika koji moraju biti ispunjeni da bi se prema važećem pravilniku mogao smatrati pogodnim
43 za obradu i upotrebu za veštačko osemenjavanje (VO). Ejakulat mora da ima zapreminu od
44 najmanje 2 mL, mlečnu boju, konzistenciju mleka i miris specifičan za vrstu. Minimalna
45 progresivna pokretljivost treba da bude 65%, najmanja koncentracija $500 \times 10^6/\text{mL}$ i pH
46 vrednost od 6,5 do 7,0. Maksimalno dozvoljen procenat morfološki promenjenih
47 spermatozoida je 20%, a ukupan broj bakterija u spermi može da bude 5 000 CFU/mL. U
48 istom poglavlju se navode i parametri kvaliteta duboko zamrznutog semena bika posle
49 otapanja. Seme bika nakon odmrzavanja treba da ispunjava sledeće minimalne uslove: da
50 ima progresivnu pokretljivost spermatozoida od najmanje 50%, procenat morfološki
51 promenjenih spermatozoida do 30%, progresivnu pokretljivost posle testa otpornosti od
52 najmanje 40%. Broj progresivno pokretnih i morfološki normalnih spermatozoida u dozi posle
53 odmrzavanja mora da bude najmanje 1×10^6 , a ukupan broj bakterija do 500 CFU/mL. U
54 šestom podpoglavlju kandidat navodi podatke o mineralnim supstancama u živom svetu, sa
55 posebnim akcentom na funkciju i ulogu cinka u reprodukciji. Značaj cinka u reprodukciji
56 proizilazi iz činjenice da je on, ili osnovna komponenta, ili aktivator enzima koji su uključeni u
57 sintezu polnih steroida. Cink je bitan za biosintezu testosterona i utiče na aktivnost folikulo-
58 stimulirajućeg i luteinizirajućeg hormona, tako da je u uskoj vezi sa procesom
59 spermatogeneze. Deficit cinka izaziva smetnje u razvoju testisa uz vidnu atrofiju tubularnog
60 epitela i istovremeno smanjen sadržaj cinka u testisima, epididimusu i prostati. U istom

1 poglavlju, kandidat navodi oblike i načine unošenja i uticaj olova, kadmijuma i žive na
2 organizam i reproduktivni sistem. U prirodi se olovo pretežno nalazi u obliku sulfidnih i
3 karbonatnih jedinjenja i minerala galenita, cerusita i anglezita i vrlo često se pojavljuje u
4 rudama zajedno s cinkom. Olovo se kao polutant može detektovati u svim segmentima
5 životne sredine i biološkim sistemima i odavno je poznato njegovo toksično dejstvo u životnoj
6 i radnoj sredini. Olovo nije esencijalni metal, a uneto u organizam se može naći u gotovo svim
7 tkivima i organima sisara. Nakon unošenja, olovo ispoljava toksični efekat na jetru, bubrege i
8 mozak, koji se i smatraju njegovim ciljnim organima. Olovo je metal sa kumulativnim dejstvom
9 i deluje konkurentno prema nekim esencijalnim metalima (gvožđu, kalcijumu, bakru i cinku).
10 Olovo se akumulira u tkivima i može da izazove brojne neurološke, hematološke i
11 reproduktivne poremećaje. Dugotrajna izloženost uticaju olova dovodi do promena u kvalitetu
12 semena i promena u hromatinskoj strukturi. Internacionalna agencija za istraživanje kancera
13 IARC (International Agency For Research on Cancer) je još 1987. godine svrstala olovo u
14 kancerogene materije. Kadmijum je označen kao jedan od 126 najvećih zagađivača životne
15 sredine od strane Američke agencije za zaštitu životne sredine, a njegovo biološko vreme
16 poluraspada je kod ljudi između 10 i 30 godina. Kadmijum se unosi u organizam u obliku para
17 i čestica prašine kao oksid, hlorid, fluorid, sulfid, karbonat i acetat. Najveća količina
18 kadmijuma se unosi putem kontaminirane hrane (pirinač, iznutrice i gljive). Izuzetno toksičan
19 efekat kadmijuma je rezultat njegovih interakcija sa esencijalnim mikro i makro elementima,
20 posebno sa gvožđem, kalcijumom, bakrom i cinkom. Živa je široko rasprostranjena u prirodi
21 gde se može naći u elementarnom, neorganskom i organskom obliku. Opšta populacija ljudi i
22 životinja je izložena negativnom efektu žive uglavnom putem konzumiranja kontaminirane
23 hrane, posebno ribe, u kojoj se živa akumulira u obliku metilirane žive. Trovanje
24 elementarnom živom nastaje i udisanjem i pošto se dobro resorbuje u plućima, a zadržava se
25 u centralnom nervnom sistemu ili ostaje u eritrocitima. Organski proizvodi žive se rastvaraju u
26 mastima i dobro se resorbuju iz digestivnog trakta. Jedinjenja žive ometaju steroidogenezu,
27 uključujući sintezu polnih hormona, narušavaju plodnost mužjaka i ženki i ometaju osovine
28 hipotalamus-hipofiza-tireoidea i hipotalamus-hipofiza-nadbubreg.

29 U poglavlju **Cilj i zadaci istraživanja**, kandidat navodi da je osnovni cilj istraživanja
30 sprovedenih u okviru ove doktorske disertacije bio određivanje koncentracija cinka, olova,
31 kadmijuma i žive u hrani i vodi za priplodne bikove, vodi za pripremu razređivača, određivanje
32 koncentracije ovih elementa u duboko zamrznutom semenu bikova i analiza njihovog uticaja
33 na parametre koji određuju kvalitet sperme. Radi realizacije ovih ciljeva formulisani su sledeći
34 istraživački zadaci:

- 35
- 36 - Odabir i formiranje četiri grupe bikova za ispitivanje duboko zamrznute sperme.
- 37 - Uzorkovanje duboko zamrznutog semena bikova uzgajanih na tri različita lokaliteta u
38 Srbiji i jednom lokalitetu u Nemačkoj i njihovo dopremanje do laboratorija u kontejnerima sa
39 tečnim azotom
- 40 - Uzorkovanje hrane (sena i potpune krmne smešeza priplodne bikove), vode i vode za
41 pripremu razređivača za seme i dopremanje do laboratorija u kojima će se vršiti ispitivanja.
- 42 - Ispitivanje parametara kvaliteta semena bikova sve četiri grupe.
- 43 - Određivanje koncentracije olova, kadmijuma, cinka i žive u hrani i vodi za bikove sve
44 četiri grupe.
- 45 - Određivanje koncentracije olova, kadmijuma, cinka i žive u vodi za pripremu
46 razređivača sa seme bikova.
- 47 - Određivanje koncentracije olova, kadmijuma, cinka i žive u duboko zamrznutom
48 semenu bikova sve četiri grupe.
- 49 - Statistička obrada rezultata i poređenje vrednosti dobijenih određivanjem
50 koncentracije teških metala u hrani i duboko zamrznutom semenu i analiza njihovog uticaja
51 na kvalitet semena
- 52

53 U poglavlju **Materijal i metode istraživanja** kandidat detaljno opisuje sve etape i metode
54 planiranih istraživanja. Ispitivanjima je obuhvaćeno duboko zamrznuto seme od ukupno 40
55 bikova i to iz svake grupe po deset (A, B, C sa tri različita lokaliteta u Srbiji i D iz Nemačke).
56 Sa tri lokaliteta u Srbiji i jednog u Nemačkoj, uzeti su uzorci vode, koncentrata i sena kojima
57 su bikovi hranjeni i napajani poslednjih šest meseci, kao i uzorci vode za pripremu
58 razređivača za seme.

Ispitivanje kvaliteta duboko zamrznutog semena

Procenat živih i mrtvih spermatozida određivan je posle otapanja pajeta i bojenja Tripan plavim/Eozin Nigrozinom (TP/NE) modifikacija po Jovičinu, upotrebom mikroskopa (Bio Optica, Italija) pri uveličanju od 500 - 1000 X. Određivanje koncentracije spermatozida vršeno je CASA metodom. Defekti akrozoma su utvrđivani posle bojenja po Farelly-u i posmatranja pod imerzionim objektivom uz povećanje od 1000 X.

Duboko zamrznuta sperma je pregledana CASA analizatorom (ISAS Proiser, model V.1.2., Španija, eng. ISAS = Integrated Sperm Analysis System). Pregledom su obuhvaćeni: koncentracija i parametri pokretljivosti spermatozida, odnos živih i mrtvih spermatozida, nalaz intaktnih i oštećenih akrozoma, protoplazmatskih kapljica, kao i primarnih, sekundarnih i ukupnih patoloških formi spermatozida. Za pojedine strukturne i fiziološke karakteristike spermatozida korišćen je protočni citometar (Guava EasyCyte, Guava Technologies Inc, Hayward, California, USA). Ovaj aparat je opremljen softverom podešenim za analizu semena i obradu podataka (IMV Technologies, L'Aigle, Francuska).

Ukupan broj živih aerobnih mikroorganizama određivan je standardnom metodom ISO TR 8607 ISO (fR 8607:1991 (E))

Ispitivanje duboko zamrznutog semena i hrane za bikove na prisustvo olova, cinka, kadmijuma i žive

Određivanje koncentracije olova, cinka i kadmijuma u duboko zamrznutom semenu i hranivima vršeno je atomskim apsorpcionim spektrometrom Analysc 700 (Perkin Elmer, Engleska) metodom izvan područja primene SRPS EN 14084:2008 Prehrambeni proizvodi - Određivanje elemenata u tragovima - Određivanje olova, kadmijuma, cinka, bakra i gvožđa atomskom apsorpcionom spektrometrijom (AAS) posle mikrotalasnog razaranja.

Određivanje koncentracije žive u duboko zamrznutom semenu i hrani vršeno je na atomskom apsorpcionom spektrometru Analysc 700 (Perkin Elmer, Engleska) metodom izvan područja primene SRPS EN 13806:2008 Prehrambeni proizvodi - Određivanje elemenata u tragovima - Određivanje žive atomskom apsorpcionom spektrometrijom (AAS) – tehnikom hladnih para (CVAAS) posle razaranja pod pritiskom.

U poglavlju **Rezultati istraživanja** kandidat je u četiri podpoglavlja prikazao rezultate do kojih je došao. U prvom podpoglavlju su prikazani rezultati ocene kvaliteta duboko zamrznutog semena posle otapanja. Analiza prosečnih vrednosti koncentracije spermatozida ($10^6/\text{mL}$), je ukazala da je najveće vrednosti ovog parametra imala eksperimentalna grupa C ($104,235 \pm 15,649$), dok je najmanji broj spermatozida zabeležen u grupi D ($68,324 \pm 13,534$). Signifikantne razlike ($p < 0,05$) su ustanovljene samo između ove dve grupe, dok između ostalih grupa, njih nije bilo ($p > 0,05$). Najveće variranje, koje izlazi izvan granica homogenosti statističke serije (45,93%), je zabeleženo u eksperimentalnoj grupi A. Analiza prosečnih vrednosti broja spermatozida u jednoj dozi semena (10^6), ukazala je, da je najveće vrednosti ovog parametra imala eksperimentalna grupa C ($26,802 \pm 4,195$), dok je najmanji broj spermatozida registrovan u grupi D ($17,081 \pm 3,383$). Kao i u prethodnom slučaju, statistički signifikantne razlike ($p < 0,01$) su ustanovljene samo između ove dve grupe, ali ne i između ostalih ($p > 0,05$). Najveće variranje, koje izlazi izvan granica homogenosti statističke serije (45,93%), je registrovano u eksperimentalnoj grupi A. Analizirajući prosečne vrednosti procenta ukupno pokretljivih spermatozida u jednoj dozi semena, ustanovljeno je da je najveće vrednosti imala eksperimentalna grupa C ($54,14 \pm 10,95\%$), dok je najmanji procenat pokretnih spermatozida zabeležen u grupi A ($42,95 \pm 12,23\%$). Između eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene statistički signifikantne razlike ($p > 0,05$). Najveća variranja, koje izlaze izvan granica homogenosti statističke serije, zabeležena su u eksperimentalnim grupama D (38,46%) i B (36,38%). Eksperimentalna grupa C je imala najveće prosečne vrednosti broja ukupno pokretljivih spermatozida u jednoj dozi semena ($14,337 \pm 4,665 \times 10^6$), dok je najmanji broj pokretnih spermatozida zabeležen u grupi D ($9,028 \pm 4,545 \times 10^6$). Između eksperimentalnih grupa bikova nisu ustanovljene signifikantne razlike ($p > 0,05$). U svim eksperimentalnim grupama je zapaženo visoko variranje, koje je bilo najveće kod eksperimentalne grupe A (78,70%) a najmanje u grupi C (32,54%). Ovako visoko variranje podataka i relativno mala dubina statističkih serija, doprinelo je izostanku signifikantnih

1 razlika. Analiza prosečnih vrednosti procenta progresivno pokretljivih spermatozoida ukazala
2 je da je najveće vrednosti imala eksperimentalna grupa C ($32,88 \pm 8,67\%$), dok je najmanja
3 pokretljivost spermatozoida zabeležena u grupi A ($24,70 \pm 7,69\%$). Između eksperimentalnih
4 grupa nisu ustanovljene statistički signifikantne razlike ($p > 0,05$). Najveća variranja, koja izlaze
5 izvan granica homogenosti statističke serije, zabeležena su u eksperimentalnim grupama B
6 ($43,89\%$) i D ($40,60\%$). Analizom prosečnih vrednosti broja progresivno pokretljivih
7 spermatozoida u dozi (10^6) ustanovljeno je da je najveće vrednosti imala eksperimentalna
8 grupa C ($8,679 \pm 3,141$), dok je najmanje progresivno pokretljivih spermatozoida bilo u grupi D
9 ($5,012 \pm 2,557$). Između eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene signifikantne razlike
10 ($p > 0,05$). U svim grupama je zabeleženo visoko variranje vrednosti ovog parametra, koje je
11 bilo najveće u eksperimentalnoj grupi A ($76,88\%$) a najmanje u grupi C ($36,19\%$). Visok
12 stepen varijacija podataka i relativno mala dubina statističkih serija su doprineli izostanku
13 statističke značajnosti razlika. Analiza prosečnih vrednosti procenta brzih spermatozoida u
14 dozi, ukazala je da je najveće vrednosti imala eksperimentalna grupa C ($39,27 \pm 11,77\%$), dok
15 je najmanje brzih spermatozoida zabeleženo u grupi A ($29,46 \pm 10,16\%$). Između
16 eksperimentalnih grupa nisu utvrđene statistički signifikantne razlike ($p > 0,05$). U svim
17 eksperimentalnim grupama je uočeno visoko variranje vrednosti ovog parametra, koje je bilo
18 najveće kod bikova grupe D ($48,06\%$), a najmanje kod bikova grupe C ($29,96\%$). Visok
19 stepen variranja i mala dubina statističkih serija su uslovlili izostanak statistički signifikantnih
20 razlika. Bikovi eksperimentalne grupe D su imali najveći prosečni procenat živih
21 spermatozoida ($61,40 \pm 13,68\%$) dok je najmanje živih spermatozoida registrovano u grupi A
22 ($55,00 \pm 10,07\%$). Između eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene statistički signifikantne
23 razlike ($p > 0,05$), a najveće variranje ($34,73\%$), koje izlazi izvan granica homogenosti
24 statističke serije, zabeleženo je kod bikova eksperimentalne grupe B.
25 Najveće prosečne vrednosti procenta živih spermatozoida sa intaktnim akrozomom
26 ustanovljene su u eksperimentalnoj grupi C ($47,40 \pm 14,45\%$), dok je najmanje živih
27 spermatozoida sa intaktnim akrozomom registrovano kod bikova grupe D ($46,80 \pm 14,73\%$).
28 Između eksperimentalnih grupa bikova nisu ustanovljene statistički signifikantne razlike u
29 srednjim vrednostima ovog parametra ($p > 0,05$). Najveće variranje, koje izlazi izvan granica
30 homogenosti statističke serije, zabeleženo je u eksperimentalnoj grupi B ($37,10\%$). Analizom
31 prosečnih vrednosti procenta živih spermatozoida sa oštećenim akrozomom, ustanovljeno je
32 da je u uzorcima semena bikova eksperimentalne grupe D, bilo najviše ovih ćelija
33 ($7,40 \pm 3,27\%$). Ovaj procenat je bio signifikantno veći od procenta u grupi C ($2,70 \pm 2,83\%$)
34 ($p < 0,01$) i značajno veći ($p < 0,05$) u odnosu na procenat registrovan u grupi A ($3,40 \pm 3,27\%$).
35 Između ostalih grupa bikova nisu ustanovljene signifikantne razlike u srednjim vrednostima
36 ovog parametra ($p > 0,05$). U svim eksperimentalnim grupama je zabeleženo visoko variranje
37 procenta živih spermatozoida sa oštećenim akrozomima, koje je bilo najveće u
38 eksperimentalnoj grupi C ($104,83\%$), a najmanje u grupi D ($44,23\%$). Ovako visoko variranje
39 podataka i relativno mala dubina statističkih serija su imali za posledicu izostanak statistički
40 signifikantnih razlika između ostalih grupa. Analiza prosečnih vrednosti ukupnog procenta
41 spermatozoida sa oštećenim akrozomom u dozi semena, ukazala je da su najveće vrednosti
42 registrovane u eksperimentalnoj grupi A ($25,20 \pm 6,91\%$), dok je najmanji procenat
43 spermatozoida sa oštećenim akrozomom zabeležen u grupi C ($17,00 \pm 5,37\%$). Između
44 eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene statističke signifikantne razlike ($p > 0,05$). Najveća
45 variranja, koja izlaze izvan granica homogenosti statističke serije, zabeležena su u
46 eksperimentalnim grupama B ($54,29\%$) i D ($47,06\%$). Prosečne vrednosti procenta
47 spermatozoida sa protoplazmatskom kapljicom su bile najveće u eksperimentalnoj grupi B
48 ($1,90 \pm 2,38\%$), dok je najmanja vrednost zabeležena u grupi D ($1,00 \pm 1,33\%$). Između
49 eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene statistički signifikantne razlike ($p > 0,05$). U svim
50 eksperimentalnim grupama je uočljivo visoko variranje vrednosti ovog parametra, koje je bilo
51 najveće u grupi A ($117,81\%$) a najmanje u C grupi ($73,14\%$). Visoke vrednosti koeficijenta
52 varijacije i relativno mala dubina statističkih serija, imali su za posledicu izostanak statističke
53 značajnosti razlika u srednjim vrednostima ovog parametra. Prosečne vrednosti procenta
54 primarno abnormalnih, odnosno patološki promenjenih spermatozoida su bile najveće u
55 eksperimentalnoj grupi C ($11,60 \pm 6,31\%$), a najmanje u grupi A ($6,80 \pm 4,98\%$). Između
56 eksperimentalnih grupa bikova nisu ustanovljene statistički signifikantne razlike u srednjim
57 vrednostima ovog parametra ($p > 0,05$). Najveća variranja, koja izlaze izvan granica
58 homogenosti statističke serije, su zabeležena u eksperimentalnim grupama A ($73,30\%$) i C
59 ($54,40\%$). Analiza prosečnih vrednosti procenta sekundarno abnormalnih, odnosno patološki
60 promenjenih spermatozoida u dozi, ukazala je da su one najveće u eksperimentalnoj grupi B

1 (6,30±4,86%), dok je najmanja vrednost zabeležena u grupi A (3,50±1,96%). Između
2 eksperimentalnih grupa bikova nisu ustanovljene signifikantne razlike ($p>0,05$). U svim
3 eksperimentalnim grupama je zabeleženo visoko variranje, koje je bilo najveće u grupi D
4 (104,13%) a najmanje u grupi A (55,94%). Ovako visoko variranje podataka i relativno mala
5 dubina statističkih serija su uslovili izostanak statistički signifikantnih razlika. Prosečne
6 vrednosti procenta ukupno patološki promenjenih spermatozoida bile najveće u
7 eksperimentalnoj grupi C (15,90±7,80%), dok je najmanji broj promenjenih spermatozoida
8 registrovan u grupi A (10,30±6,13%). Usled visokih vrednosti koeficijenta varijacije i relativno
9 male dubine statističkih serija, nisu ustanovljene statistički signifikantne razlike u srednjim
10 vrednostima ($p>0,05$) procenta ukupno patološki promenjenih spermatozoida. U svim
11 eksperimentalnim grupama je zabeleženo visoko variranje, koje je bilo najveće u grupi A
12 (59,51%), a najmanje u grupi B (34,95%).

13 Analizom prosečnih vrednosti statusa hromatina, kod neoštećenih spermatozoida,
14 ustanovljeno je da je najveće vrednosti ovog parametra imala eksperimentalna grupa A
15 (90,15±6,39%) i one su bile signifikantno veće od najmanjih vrednosti (63,97±22,18%) koje
16 su zabeležene u grupi B ($p<0,01$). Između ostalih eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene
17 statistički signifikantne razlike ($p>0,05$). Najveće variranje, koje izlazi izvan granica
18 homogenosti statističke serije (34,67%), zabeleženo je u eksperimentalnoj grupi B. Analiza
19 prosečnih vrednosti procenta spermatozoida sa oštećenim hromatinom, ukazala je
20 su najveće vrednosti registrovane u eksperimentalnoj grupi B (35,14±21,30), dok je najmanji
21 broj oštećenih spermatozoida imala grupa A (9,93±6,47). Samo su između ove dve grupe
22 ustanovljene statistički signifikantne razlike ($p<0,01$). U svim grupama bikova je uočljivo
23 visoko variranje ovog parametra. Ono je bilo najveće eksperimentalnoj grupi A (65,17%), a
24 najmanje u grupi D (47,10%). Ovako visoko variranje podataka i relativno mala dubina
25 statističkih serija su uslovili izostanak statistički signifikantnih razlika u srednjim vrednostima
26 između ostalih grupa.

27 Analizom prosečnih vrednosti procenta živih spermatozoida u dozi semena, ustanovljeno je
28 da su one bile najmanje u eksperimentalnoj grupi A (37,79±16,58%) i bile su signifikantno
29 manje od najvećih vrednosti procenta živih spermatozoida koji je zabeležen u grupi D
30 (64,23±16,36%); ($p<0,01$). Takođe je procenat živih spermatozoida bio značajno manji u C
31 grupi (43,86±8,78%) u odnosu na grupu D (64,23±16,36%) ($p<0,05$). Vrednosti registrovane u
32 eksperimentalnoj grupi su bile statistički signifikantno manje od vrednosti u eksperimentalnoj
33 grupi B (62,47±19,43%) ($p<0,05$). Između ostalih eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene
34 statistički signifikantne razlike u srednjim vrednostima ($p>0,05$). U svim eksperimentalnim
35 grupama je uočljivo povećano variranje, koje je bilo najveće u grupi A (43,89%) a najmanje
36 (20,02%) u C grupi. Prosečne vrednosti procenta živih spermatozoida sa intaktnim
37 akrozomom su bile najmanje u eksperimentalnoj grupi A (36,27±16,31%) i bile su statistički
38 signifikantno manje od najvećih vrednosti procenta živih spermatozoida koji je zabeležen u
39 grupi D (59,11±17,11%) ($p<0,05$). Procenat živih spermatozoida sa intaktnim akrozomom je bio
40 značajno manji kod bikova grupe A (36,27±16,31) u odnosu na B grupu (58,08±18,18%)
41 ($p<0,05$). Između ostalih eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene statistički signifikantne
42 razlike ($p>0,05$). Najveći koeficijent varijacije (44,95%), koji izlazi izvan granica homogenosti
43 statističke serije, zabeležen je eksperimentalnoj grupi A. Prosečne vrednosti procenta mrtvih
44 spermatozoida sa intaktnim akrozomom u dozi semena bika su bile najmanje u
45 eksperimentalnoj grupi B (17,27±7,13%) i bile su statistički signifikantno manje ($p<0,01$) od
46 najvećih vrednosti procenta mrtvih spermatozoida sa intaktnim akrozomom zabeleženim u
47 grupi C (33,69±7,53%). Takođe je procenat mrtvih spermatozoida sa intaktnim akrozomom,
48 bio značajno manji ($p<0,01$) u grupi D (19,14±8,57%) u odnosu na C grupu (33,69±7,53%).
49 Između ostalih eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene statistički signifikantne razlike
50 ($p>0,05$). Najveće variranje, koje izlazi izvan granica homogenosti statističke serije,
51 zabeleženo je u eksperimentalnim grupama D (44,75%) i B 41,30%. Analiza prosečnih
52 vrednosti živih spermatozoida sa oštećenim akrozomom ukazuje da je eksperimentalna grupa
53 C imala najmanje vrednosti ovog parametra (1,31±0,57%) i one su bile statistički signifikantno
54 manje od najvećih vrednosti procenta živih spermatozoida sa oštećenim akrozomom koji je
55 zabeležen u grupi D (5,12±1,17%) ($p<0,01$). Procenat živih spermatozoida sa oštećenim
56 akrozomom je bio značajno manji u grupi C (1,31±0,57%) u odnosu na B grupu (4,39±2,95)
57 ($p<0,01$). Eksperimentalna grupa A (1,51±0,74%) je imala statistički signifikantno manji
58 procenat živih spermatozoida sa oštećenim akrozomom od eksperimentalne grupe D
59 (5,12±1,17%) ($p<0,01$). Na kraju, procenat živih spermatozoida sa oštećenim akrozomom je
60 bio značajno manji kod A grupe (1,51±0,74%) u odnosu na grupu B (4,39±2,95%) ($p<0,01$).

1 Između ostalih eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene statistički signifikantne razlike
2 ($p>0,05$). Kod svih eksperimentalnih grupa je zabeleženo visoko variranje, koje je bilo najveće
3 u eksperimentalnoj grupi B (67,15%), a najmanje u D grupi (22,90%). Prosečne vrednosti
4 procenta mrtvih spermatozoida sa oštećenim akrozomom su bile najmanje u
5 eksperimentalnoj grupi D ($16,61\pm 7,92\%$) i bile su statistički signifikantno manje ($p<0,01$) od
6 najvećih vrednosti ovog parametra koji je zabeležen u grupi A ($37,91\pm 10,19\%$).
7 Eksperimentalna grupa B ($20,23\pm 14,96\%$) je imala signifikantno manji procenat mrtvih
8 spermatozoida u odnosu na vrednosti eksperimentalne grupe A ($p<0,05$). Procenat mrtvih
9 spermatozoida sa oštećenim akrozomom je bio značajno manji u C grupi ($22,45\pm 10,12\%$) u
10 odnosu na grupu ($p<0,05$). Između ostalih eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene statistički
11 signifikantne razlike ($p>0,05$). Kod svih eksperimentalnih grupa je zabeleženo visoko
12 variranje, koje je bilo najveće u eksperimentalnoj grupi B (73,96%) a najmanje u grupi A
13 (26,89%). Ovako visoko variranje podataka i relativno mala dubina statističkih serija su
14 doprinele izostanku statistički signifikantnih razlika između ostalih grupa. Prosečne ukupne
15 vrednosti mrtvih spermatozoida sa oštećenim akrozomom bile su najmanje u
16 eksperimentalnoj grupi D ($21,74\pm 8,68\%$) i bile su statistički signifikantno manje ($p<0,05$), od
17 najvećih vrednosti procenta mrtvih spermatozoida koji je zabeležen u grupi A ($39,06\pm 9,91\%$).
18 Procenat mrtvih spermatozoida sa oštećenim akrozomom je bio značajno manji $p<0,05$ u C
19 grupi ($23,76\pm 10,45\%$) u odnosu na grupu A ($39,06\pm 9,91\%$). Između ostalih eksperimentalnih
20 grupa nisu ustanovljene statistički signifikantne razlike ($p>0,05$). Kod svih eksperimentalnih
21 grupa je zabeleženo visoko variranje, koje je bilo najveće u eksperimentalnoj grupi B
22 (55,55%), a najmanje u grupi A (25,38%). Visoko variranje podataka i relativno mala dubina
23 statističkih serija doprinelo je izostanku statistički signifikantnih razlika između srednjih
24 vrednosti ovog parametra registrovanih u ostalim grupama. Analizom prosečnih vrednosti
25 procenta spermatozoida sa neoštećenom membranom ustanovljeno je da je najveće
26 vrednosti imala eksperimentalna grupa B ($49,23\pm 21,20\%$), dok je najmanji procenat ovih
27 spermatozoida zabeležen u grupi A ($41,46\pm 10,20\%$). Između eksperimentalnih grupa nisu
28 ustanovljene statistički signifikantne razlike u srednjim vrednostima ($p>0,05$). Najveće
29 variranje, koje izlazi izvan granica homogenosti statističke serije, zabeleženo je u
30 eksperimentalnim grupama B (43,06%) i C (21,07%). Analizom prosečnih vrednosti procenta
31 spermatozoida sa oštećenom membranom ustanovljeno je da je eksperimentalna grupa A
32 imala najveće srednje vrednosti ovog parametra ($58,64\pm 10,26\%$), dok je najmanji broj
33 spermatozoida sa oštećenim membranama registrovan u grupi B ($50,78\pm 21,20\%$). Između
34 eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene statistički signifikantne razlike u srednjim
35 vrednostima ($p>0,05$). Najveće variranje, koje izlazi izvan granica homogenosti statističke
36 serije, zabeleženo je u eksperimentalnim grupama B (41,75%) i C (34,56%).
37 Analiza prosečnih vrednosti brzine spermatozoida na njihovoj istinskoj putanji ukazala je da je
38 najveće vrednosti imala eksperimentalna grupa C ($89,28\pm 16,49 \mu\text{m}/\text{sec}$), dok je najmanja
39 vrednost zabeležena kod grupe D ($69,46\pm 10,64 \mu\text{m}/\text{sec}$). Samo su između ove dve grupe
40 ustanovljene su statistički signifikantne razlike u srednjim vrednostima ($p<0,05$), dok to nije
41 bio slučaj između ostalih grupa ($p>0,05$). Najveće variranje, koje se nalazi u granicama
42 homogenosti statističke serije, zabeleženo je u eksperimentalnoj grupi B (23,95%). Rezultati
43 analize prosečne linearne brzine spermatozoda ukazuju da je najveće vrednosti ovog
44 parametra imala eksperimentalna grupa C ($48,85\pm 9,27 \mu\text{m}/\text{sec}$), dok je najmanja srednja
45 vrednost zabeležena u grupi D ($36,25\pm 6,64 \mu\text{m}/\text{sec}$). Između eksperimentalnih grupa nisu
46 ustanovljene statistički signifikantne razlike u srednjim vrednostima ($p>0,05$). Najveće
47 variranje, koje se nalazilo u granicama homogenosti statističke serije, zabeleženo je u
48 eksperimentalnoj grupi B (31,64%). Prosečne vrednosti srednje brzine su bile najveće u
49 eksperimentalnoj grupi C ($60,32\pm 10,55 \mu\text{m}/\text{sec}$), a najmanje u grupi D ($46,86\pm 8,01 \mu\text{m}/\text{sec}$).
50 Samo je između ove dve grupe ustanovljena statistički signifikantna razlika u srednjim
51 vrednostima ($p<0,05$). Najveće variranje, koje se nalazilo u granicama homogenosti
52 statističke serije, zabeleženo je u eksperimentalnoj grupi B (28,07%). Analizom prosečnih
53 vrednosti amplituda lataralnog otklona ustanovljeno je da je eksperimentalna grupa D imala
54 najmanju srednju vrednost ovog parametra ($2,94\pm 0,29 \mu\text{m}$), što je statistički vrlo značajno
55 manje ($p<0,01$) od prosečne vrednosti eksperimentalne grupe C ($3,62\pm 0,54 \mu\text{m}$), a značajno
56 manje ($p<0,05$) od one u eksperimentalnoj grupi A ($3,53\pm 0,32 \mu\text{m}$). Eksperimentalna grupa B
57 ($3,01\pm 0,49 \mu\text{m}$) je imala vrednosti koje su značajno ($p<0,05$) manje nego u eksperimentalnim
58 grupama A ($3,53\pm 0,32 \mu\text{m}$) i C ($3,62\pm 0,54 \mu\text{m}$). Između ostalih eksperimentalnih grupa nisu
59 ustanovljene statistički signifikantne razlike ($p>0,05$). Najveće variranje, koje je bilo u
60 granicama homogenosti statističke serije, zabeleženo je u eksperimentalnoj grupi B (16,46%).

1 Prosečne vrednosti indeksa linearnosti su bile najveće u eksperimentalnoj grupi B
2 (56,50±6,64%), a najmanje u grupi A (48,19±7,14%). Statistički signifikantne razlike u
3 srednjim vrednostima su dokazane samo između ove dve grupe ($p < 0,05$), ali ne i između
4 ostalih ($p > 0,05$). Najveće variranje, koje se nalazilo u granicama homogenosti statističke
5 serije, zabeleženo je u eksperimentalnoj grupi A (14,81%). Analizom prosečnih vrednosti
6 indeksa oscilacije je ustanovljeno da je eksperimentalna grupa A imala najmanju vrednost
7 ovog parametra (61,18±3,58%), što je statistički vrlo značajno manje ($p < 0,01$) od prosečnih
8 vrednosti registrovanih u ostalim eksperimentalnim grupama B (69,74±4,74%), C
9 (67,73±3,95%) i D (67,32±3,74%). Između ostalih grupa nisu ustanovljene statistički
10 signifikantne razlike ($p > 0,05$). U svim oglednim grupama su koeficijenti varijacija bili veoma
11 niski. Analizom prosečnih vrednosti pravolinijskog indeksa ustanovljeno je da je najveće
12 srednje vrednosti ovog parametra imala eksperimentalna grupa C (80,82±2,44%), a
13 najmanje grupa D (77,18±3,17%). Između eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene
14 statistički signifikantne razlike ($p > 0,05$). Variranja podataka su, u svim eksperimentalnim
15 grupama, bila mala. Najveće prosečne vrednosti prelazaka pravolinijske putanje su
16 ustanovljene u eksperimentalnoj grupi A (10,51±1,87 Hz), dok su najmanje srednje vrednosti
17 zabeležene u grupi D (9,61±0,93 Hz). Između eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene
18 statistički signifikantne razlike ($p > 0,05$). Najveće variranje, koje se nalazilo u granicama
19 homogenosti statističke serije, zabeleženo je u eksperimentalnoj grupi A (17,82%). Analizom
20 prosečnih vrednosti procenta manježnog kretanja spermatozoida, ustanovljeno je da su one
21 bile najveće u eksperimentalnoj grupi D (26,23±10,64%), dok je najmanja vrednost
22 zabeležena kod grupe B (21,91±7,82%). Između eksperimentalnih grupa nisu ustanovljene
23 signifikantne razlike ($p > 0,05$). Kod svih eksperimentalnih grupa je zabeleženo visoko
24 variranje, koje je bilo najveće u eksperimentalnoj grupi D (40,58%), a najmanje u grupi C
25 (23,02%). Ovako visoko variranje podataka i relativno mala dubina statističkih serija imali su
26 za posledicu izostanak statistički signifikantnih razlika u srednjim vrednostima.
27 Analizom prosečnih vrednosti površine glave spermatozoida ustanovljeno je da je najmanju
28 srednju vrednost imala eksperimentalna grupa A (25,62±1,39 μm^2), što je bilo statistički vrlo
29 značajno manje ($p < 0,01$) od prosečne vrednosti u eksperimentalnim grupama C (30,73±1,23
30 μm^2) i D (29,32±1,36 μm^2), a značajno manje ($p < 0,05$) od onih u eksperimentalnoj grupi B
31 (27,60±1,38 μm^2). Eksperimentalna grupa B (27,60±1,38 μm^2) je imala vrednost koja je
32 statistički vrlo značajno manja ($p < 0,01$) od vrednosti eksperimentalne grupe C (30,73±1,23
33 μm^2), a značajno manja ($p < 0,05$) od vrednosti eksperimentalne grupe D (29,32±1,36 μm^2).
34 Između prosečnih vrednosti registrovanih u eksperimentalnim grupama C i D, nisu
35 ustanovljene statistički signifikantne razlike ($p > 0,05$). U svim eksperimentalnim grupama su
36 ustanovljena minimalna variranja.

37 U drugom podpoglavlju su prikazani rezultati određivanja koncentracije teških metala u
38 hranivima, vodi za piće i vodi korišćenju za razređivač za seme. Najmanja koncentracija cinka
39 je utvrđena u senu kojim je hranjena grupa bikova A i iznosila je 12 mg/kg, dok su kod
40 ostalih grupa vrednosti za koncentraciju cinka bile ali približno iste. Koncentracija žive u
41 senu je bila najveća u grupama B i D (0,52 i 0,41 mg/kg) dok su ostalim grupama vrednosti
42 bile četverostruko niže. Koncentracija olova u senu je bila najveća u grupi A i iznosila je 5,4
43 mg/kg, a najniža u grupi D (2,2 mg/kg). Koncentracija kadmijuma u senu je bila najniža u
44 grupi D i iznosila je 0,11 mg/kg, dok je kod ostalih grupa bila za 50 do 80% viša. Kako je
45 određivanje koncentracije teških metala vršeno u samo jednom uzorku sena nije rađena
46 statistička analiza. Koncentracija cinka u potpunoj krmnoj smeši je bila najviša u grupama C i
47 D (84 i 78 mg/kg), a niža u ostalim grupama (50 i 51 mg/kg). Koncentracija žive je bila veća u
48 grupama B i D (0,65 i 0,62 mg/kg) u odnosu na grupe A i C (0,08 i 0,14 mg/kg).
49 Koncentracija olova je bila najveća u grupi D i iznosila je 2,5 mg/kg, dok je količina kadmijuma
50 bila najveća u grupi A i iznosila je 0,22 mg/kg. Kako je određivanje koncentracije teških
51 metala vršeno u samo jednom uzorku koncentrovanog hraniva, korišćenog za ishranu bikova,
52 nije rađena statistička analiza. Koncentracija cinka u vodi za piće je bila najveća u grupi D u
53 odnosu na sve ostale grupe i iznosila je 0,74 mg/L. Koncentracija žive je u svim ispitivanim
54 grupama bila je manja od 0,001 mg/L što je u isto vreme i granica osetljivosti metode.
55 Koncentracija olova u vodi za piće je bila najmanja u grupi A i iznosila je 0,012 mg/L, dok je u
56 ostalim ispitivanim grupama bila približno ista (0,20 – 0,22 mg/mL). Koncentracija kadmijuma
57 u vodi za piće je bila najmanja u grupi A i bila je manja od 0,001 mg/L, dok su u ostalim
58 grupama vrednosti bile nešto veće i približno iste. Kako je određivanje koncentracije teških
59 metala vršeno u samo jednom uzorku vode kojom su napajani bikovi, nije rađena statistička
60 analiza. Koncentracije žive, olova i kadmijuma u vodi koja je korišćena za pripremu

1 razređivača za seme, bile su približno iste u svim ispitivanim grupama. Jedino je
2 koncentracija cinka bila veća u uzorku vode korišćene u centru A. Kako je određivanje
3 koncentracije teških metala vršeno u samo jednom uzorku vode za pripremu razređivača za
4 seme, nije rađena statistička analiza.

5 U trećem podpoglavlju su prikazani rezultati određivanja koncentracije teških metala u duboko
6 zamrznutom semenu. Statističkom analizom koncentracije Zn u dozama semena
7 eksperimentalnih grupa bikova je ustanovljeno da su najnižu koncentraciju Zn imali bikovi
8 eksperimentalne grupe B ($3,15 \pm 2,74 \mu\text{g/mL}$). Ona je bila vrlo značajno manja ($p < 0,01$) u
9 odnosu na koncentraciju u grupi A ($6,44 \pm 0,57 \mu\text{g/mL}$) i značajno manja ($p < 0,05$) u odnosu na
10 eksperimentalnu grupu C ($6,08 \pm 1,25 \mu\text{g/mL}$). Između srednjih vrednosti, registrovanih u
11 ostalim grupama, nisu ustanovljene statistički signifikantne razlike ($p > 0,05$). Koeficijenti
12 varijacije su bili veoma visoki u grupama B (87,08%) i D (81,17%), dok su na
13 zadovoljavajućem nivou bili u grupama A (8,79%) i C (20,58). Ovako veliki koeficijenti
14 varijacija predstavljaju jedan od razloga za izostanak statistički signifikantnih razlika u
15 srednjim vrednostima između ostalih eksperimentalnih grupa. Statističkom analizom
16 koncentracije Hg u duboko zamrznutom semenu bikova ustanovljeno je da su najmanje
17 koncentracije Hg registrovane u eksperimentalnim grupama D ($0,03 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$) i B
18 ($0,04 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$) i one su bile vrlo značajno manje ($p < 0,01$) u odnosu na koncentracije u
19 grupama A ($0,07 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$) i C ($0,06 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$). Između ostalih grupa nisu ustanovljene
20 statistički signifikantne razlike u srednjim vrednostima ($p > 0,05$). Koeficijenti varijacije su bili u
21 granicama homogenosti statističkih serija. Statističkom analizom koncentracije Pb, u duboko
22 zamrznutom semenu bikova, ustanovljeno je da je najveća koncentracija olova registrovana u
23 eksperimentalnoj grupi C ($0,07 \pm 0,017 \mu\text{g/mL}$) i ona je bila vrlo značajno veća ($p < 0,01$) u
24 odnosu na sve ostale eksperimentalne grupe. Vrlo značajna razlika ($p < 0,01$) je ustanovljena i
25 između grupe A ($0,02 \pm 0,005 \mu\text{g/mL}$) i grupe B ($0,04 \pm 0,009 \mu\text{g/mL}$). Između ostalih grupa nije
26 ustanovljena statistički signifikantna razlika ($p > 0,05$). Koeficijenti varijacije su bili u granicama
27 homogenosti statističkih serija izuzev u grupi D u kojoj je vrednost ovog parametra iznosila
28 64,40%. Tokom određivanja koncentracije Cd u duboko zamrznutom semenu bikova
29 utvrđeno je da su sve ispitivane vrednosti bile ispod granica osetljivosti metode.

30 U četvrtom podpoglavlju su prikazani rezultati mikrobiološke analize duboko zamrznutog
31 semena. Analizom 40 uzoraka duboko zamrznutog i zatim otopljenog semena bikova, nisu
32 izolovani aerobni mikroorganizmi.

34 U poglavlju **Diskusija**, kandidat je razmotrio dobijene rezultate sa svih aspekata od značaja
35 za izabranu temu i istovremeno ih uporedio sa rezultatima većeg broja drugih autora,
36 objavljenim u stranim i domaćim časopisima.

38 U poglavlju **Spisak literature** citirano je 157 relevantnih referenci novijeg datuma.

41 VI ZAKLJUČCI ISTRAŽIVANJA (navesti zaključke koji su prikazani u doktorskoj 42 disertaciji):

- 44 1. Srednje vrednosti procenta ukupno pokretljivih spermatozoida, ukupnog broja pokretljivih
45 spermatozoida u dozi, procenta i broja progresivno pokretljivih spermatozoida je bio u
46 skladu sa usvojenim normativima (Pravilnik o načinu obeležavanja sperme, načinu
47 vođenja evidencije o proizvodnji sperme, kao i o uslovima koje mora da ispunjava
48 sperma u pogledu kvaliteta, Službeni glasnik R.Srbije br. 38/2014) i između grupa bikova
49 nisu dokazane statistički značajne razlike u srednjim vrednostima. Prosečan broj brzih
50 spermatozoida u dozi je bio manji u odnosu na standardne vrednosti u svim grupama
51 bikova.
- 52 2. Srednje vrednosti procenta živih spermatozoida, živih spermatozida sa intaktnim
53 akrozomom, ukupnog procenta oštećenih akrozoma, spermatozoida sa
54 protoplazmatskom kapljicom, primarno i sekundarno abnormalnih formi ćelija i ukupno
55 patološki promenjenih spermatozoida su bile u skladu sa usvojenim normativima.
56 Između grupa bikova nisu dokazane statistički značajne razlike u srednjim vrednostima.
- 57 3. Srednje vrednosti procenta živih spermatozoida sa oštećenim akrozomom su takođe bile
58 u skladu sa usvojenim normativima, ali su između pojedinih grupa bikova utvrđene
59 statistički značajne razlike u srednjim vrednostima.

- 1 4. Srednje vrednosti procenta spermatozoida sa neoštećenim hromatinom su bile niže, a
2 sa oštećenim hromatinom više u odnosu na utvrđene standardne vrednosti. Između
3 pojedinih grupa su utvrđene statistički značajne razlike u srednjim vrednostima.
- 4 5. Srednje prosečne vrednosti procenta živih spermatozoida u dozi i procenta živih
5 spermatozoida sa intaktnim akrozomom su bile u skladu sa usvojenim normativima u
6 grupama B i D, a značajno manje u grupama A i C. Procenat mrtvih spermatozoida sa
7 intaktnim akrozomom u dozi je bio u skladu sa usvojenim normativima, a između
8 pojedinih grupa su utvrđene statistički značajne razlike u srednjim vrednostima. Procenat
9 mrtvih spermatozoida sa oštećenim akrozomom u dozi i ukupan broj ćelija sa oštećenim
10 akrozomom je bio u skladu sa usvojenim normativima u grupama, B, C i D, a značajno
11 veći u grupi A (utvrđeno testom statusa membrane spermatozoida i akrozoma
12 protočnom citometrijom).
- 13 6. Procenat spermatozoida sa neoštećenim ili oštećenim membranama je takođe bio u
14 skladu sa usvojenim normativima, a između grupa nisu utvrđene statistički značajne
15 razlike u srednjim vrednostima (utvrđeno testom vitalnosti spermatozoida protočnom
16 citometrijom)
- 17 7. Srednje vrednosti krivolinijske brzine spermatozoida su bile u granicama karakterističnim
18 za vrstu, a pravolinijska i prosečna brzina su bile značajno manje u grupama A, B i C u
19 odnosu na grupu D. Vrednosti za amplitudu lateralnog otklona se nisu značajno
20 razlikovale između grupa i skladu su sa navodima iz literature.
- 21 8. Srednje vrednosti indeksa linearnosti su bile niske u svim grupama dok je indeks
22 oscilacije bio u granicama karakterističnim za vrstu. Između pojedinih grupa su utvrđene
23 statistički značajne razlike u srednjim vrednostima. Srednje vrednosti pravolinijskog
24 indeksa, frekvence prelazaka pravolinijske putanje i ćelija koje ispoljavaju manježno
25 kretanje su bile u granicama karakterističnim za vrstu i nisu se statistički značajno
26 razlikovale između grupa.
- 27 9. Koncentracija cinka u senu je iznosila 12 mg/kg do 17 mg/kg, a u koncentrovanj hrani
28 od 50 mg/kg do 84 mg/kg, što je znatno niže od koncentracija koje dozvoljavaju NRC,
29 Pravilnik o kvalitetu hrane za životinje i Evropski pravilnik EC2002/32.
- 30 10. Koncentracija cinka u vodi za piće je bila u opsegu od 0,03 mg/L do 0,74 mg/L dok je
31 koncentracija žive u svim grupama bila približno ista (<0,001 mg/L). Koncentracija olova
32 je iznosila 0,012 - 0,022 mg/L, a kadmijuma 0,0010 - 0,0014 mg/L što je značajno niže
33 od vrednosti dozvoljenih važećim normativima
- 34 11. Koncentracije cinka, žive, olova i kadmijuma u vodi koja je korišćena za pravljenje
35 razređivača za seme, su bile približno iste u svim ispitivanim grupama i bile su ispod
36 donje granice osetljivosti metode (<0,001 mg/L).
- 37 12. Koncentracija cinka u semenu bikova simentalske rase je u našim ispitivanjima bila u
38 opsegu od 3,15±2,74 do 6,44±0,57 mg/kg, žive od 0,03±0,01 do 0,07±0,01 mg/kg i olova
39 od 0,02±0,005 mg/kg do 0,07±0,017 mg/kg. Koncentracija kadmijuma je u ispitivanim
40 uzorcima bila ispod nivoa detekcije metode (< 0,001 mg/kg).
- 41 13. Sadržaj teških metala u vodi za piće, vodi za pripremu razređivača za seme, hranivima i
42 semenu bikova pripremljenom za VO je u svim uzorcima bio ispod vrednosti dozvoljenih
43 važećim normativima a ispitivani parametri kvaliteta semena su u bili u opsegu vrednosti
44 karakterističnih za vrstu. Korelacionom analizom nije utvrđena povezanost sadržaja
45 ispitivanih teških metala sa parametrima kvaliteta semena.

46
47
48 **VII OCENA NAČINA PRIKAZA I TUMAČENJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA (navesti da**
49 **li su dobijeni rezultati u skladu sa postavljenim ciljem i zadacima istraživanja, kao i da**
50 **li zaključci proizilaze iz dobijenih rezultata):**

51
52 Dobijeni rezultati su u potpunosti u skladu sa postavljenim ciljem i zadacima istraživanja, a
53 izvedeni zaključci jasno proizilaze iz dobijenih rezultata.
54
55
56
57
58
59
60

1 **VIII KONAČNA OCENA DOKTORSKE DISERTACIJE:**

2
3 **1. Da li je disertacija napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme?**

4 Doktorska disertacija mr Gorana Jakovljevića pod nazivom „Uticaj teških metala iz hrane i
5 vode na kvalitet duboko zamrznutog semena bika“ je u potpunosti napisana u skladu sa
6 obrazloženjem navedenim u prijavi.

7 **2. Da li disertacija sadrži sve elemente propisane za završenu doktorsku disertaciju?**

8 Doktorska disertacija sadrži sve elemente koji se zahtevaju za završenu doktorsku disertaciju.

9 **3. Po čemu je disertacija originalan doprinos nauci?**

10 Doprinos ove doktorske disertacije je u tome što postignuti rezultati ukazuju da se primenom
11 savremenih analitičkih hemijskih metoda i metoda kompjuterizovane analize, kao što je CASA
12 i protočne citometrije, može veoma precizno analizirati potencijalni uticaj cinka i teških metala
13 (kadmijum, olovo i živa) na parametre kvaliteta semena bika. Ovi rezultati su značajni, kako
14 za veterinarsku, tako i za humanu medicinu, zbog toga što primenjeni pristup pruža
15 mogućnosti za analizu i praćenje uticaja pojedinih mikroelemenata, kao biozagađivača
16 životne sredine, na plodnost domaćih životinja i ljudi.

17
18 **IX PREDLOG:**

19
20 **Na osnovu ukupne ocene disertacije, komisija predlaže (odabrati jednu od tri**
21 **ponuđenih mogućnosti):**

22 **- da se doktorska disertacija prihvati a kandidatu odobri odbrana**

- 23 - da se doktorska disertacija vrati kandidatu na doradu
24 - da se doktorska disertacija odbije

25
26
27 13.06.2016.
28 Beograd,

POTPISI ČLANOVA KOMISIJE

29
30 dr Slobodanka Vakanjac, vanredni profesor, Fakultet
31 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

32
33
34
35 dr Dragan Šefer, redovni profesor, Fakultet
36 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

37
38
39
40 dr Miodrag Lazarević, redovni profesor, Fakultet
41 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

42
43
44 dr Vojislav Pavlović, redovni profesor u penziji,
45 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u
46 Beogradu

47
48
49 dr Aleksandar Milovanović, naučni saradnik,
50 Institut za veterinarstvo, Novi Sad.