

3
4
5
6
7 **IZVEŠTAJ O OCENI ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE**
8
9

10
11
12 **I PODACI O KOMISIJI:**
13

14 1. **Datum i naziv organa koji je imenovao komisiju:** 24. 03. 2021. Nastavno-naučno veće
15 Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu na 214. sednici
16

17 2. **Sastav komisije sa naznakom imena i prezimena svakog člana, zvanja, naziva uže**
18 **naučne oblasti za koju je izabran u zvanje, godinom izbora u zvanje i naziv fakulteta,**
19 **ustanove u kojoj je član komisije zaposlen:**
20

- 21 1. Dr Milan Maletić, docent, Ginekologija sa andrologijom, 2017, Fakultet veterinarske
22 medicine Univerziteta u Beogradu (mentor 1)
- 23 2. Dr Branko Petrukić, vanredni profesor, Ishrana, 2019, Fakultet veterinarske medicine
24 Univerziteta u Beogradu (mentor 2)
- 25 3. Dr Slobodanka Vakanjac, redovni profesor, Ginekologija sa andrologijom, 2016,
26 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu (član komisije)
- 27 4. Dr Vladimir Magaš, vanredni profesor, Ginekologija sa andrologijom, 2019, Fakultet
28 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu (član komisije)
- 29 5. Dr Aleksandar Milovanović, viši naučni saradnik, Reprodukcijska životinja, 2020, Naučni
30 institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad (član komisije)
31
32

33 **II PODACI O KANDIDATU:**
34

35 1. **Ime, ime jednog roditelja, prezime:**

36 Slobodan, Zvonimir, Petrović
37

38 2. **Datum rođenja, opština, Republika:**

39 04. 06. 1979. Svilajnac, Srbija
40
41

42 **III NASLOV DOKTORSKE DISERTACIJE:**
43

44 Ispitivanje efekata dodavanja antioksidanasa u hrani na kvalitet semena priplodnih bikova u
45 uslovima toplotnog stresa
46

47 **IV PREGLED DOKTORSKE DISERTACIJE (navesti broja strana poglavlja, slika, šema,**
48 **grafikona i sl.):**
49

50 Doktorska disertacija Slobodana Petrovića napisana je na 84 strane, podeljena u osam
51 poglavlja: Uvod (1 strana), Pregled literature (14 strana), Cilj i zadaci (1 strana), Materijal i
52 metode (4 strane), Rezultati (35 strana), Diskusija (5 strana), Zaključci (2 strane) i Literatura
53 (195 referenci). Tekst disertacije prati 1 slika, 32 grafikona i 11 tabelarnih prikaza podataka.
54 Naslovne strane doktorske disertacije koje obuhvataju naziv na srpskom i engleskom jeziku,
55 imena mentora i članova Komisije, zahvalnicu, rezime na srpskom i engleskom jeziku i
56 sadržaj dati su na prvih 10 strana koje nisu numerisane. Nakon literature priložena je
57 biografija autora, izjava o autorstvu, izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije rada i
58 izjava o korišćenju (stranice nisu numerisane).
59
60

1 **V VREDNOVANJE POJEDINIH DELOVA DOKTORSKE DISERTACIJE (dati kratak opis**
2 **svakog poglavlja disertacije: uvoda-do 250 reči, pregleda literature-do 500 reči, cilja i**
3 **zadataka istraživanja-nije ograničeno, materijal i metoda – nije ograničeno, rezultata –**
4 **nije ograničeno, diskusije-do 100 reči, spiska referenci-navesti broj referenci u**
5 **doktorskoj disertaciji):**

6
7 U **Uvodu** kandidat ističe značaj kvalitetnog semena na održivost i ekonomsku isplativost u
8 govedarskoj proizvodnji. Navodi faktore koji imaju uticaja na kvalitet ejakulata sa posebnim
9 akcentom na oksidativni stres i posledicama koje izaziva visok nivo ROS (eng-*reactive*
10 *oxygen species*) kod spermatozoida. Ističe negativan uticaj visokih ambijentalnih temperatura
11 na kvalitet semena što dovodi do značajnih gubitaka u profitu u govedarskoj proizvodnji.

12
13 U poglavlju **Pregled literature** obuhvaćeni su detaljni podaci koji se odnose na fiziologiju
14 spermatogeneze kod bikova, opisane su faze i klasifikacija spermatogeneze sa osvrtom na
15 način obnavljanja spermatogonija. Posebna pažnja u ovom poglavlju je posvećena
16 oksidativnom stresu kao jednom od najvažnijih faktora koji negativno utiču na kvalitet
17 semena. U vezi sa tim, dat je pregled podataka iz relevantne literature koji se odnose na
18 dualnu prirodu reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) tj. pozitivne i negativne efekte ROS. Opisani
19 su mehanizmi zaštite od oksidativnog stresa. Navedeni su relevantni podaci o negativnom
20 uticaju povišene temperature i oksidativnog stresa na spermatozoide, kao podaci i o
21 povezanosti krioprezervacije semena i oksidativnog stresa.

22
23 **Ciljevi i zadaci** ove doktorske disertacije bili su:

24 Ispitivanje efekata dodavanja prirodnih antioksidanasa u hrani za priplodne bikove
25 (inaktivisanih živih ćelija kvasca *Saccharomyces cerevisiae* [soj R3970] sa visokim nivoom
26 organski vezanog selena (izvor selen zavisne glutation-peroksidaze-Se-GPx) i liofilizovanog
27 preparata pulpe dinje *Cucumis melo* (izvor superoksid dismutaze-SOD) na kvalitet semena
28 priplodnih bikova u uslovima toplotnog stresa. Pored egzogeno opterećujućih faktora (visoke
29 spoljašne temeprature), jedan od ciljeva ovog istraživanja bio je i ispitivanje uticaja
30 krioprezervacije semena kao stresogenog faktora na kvalitet semena bikova koji su dobijali
31 antioksidanse u hrani i grupe bikova koja je hranjena bez antioksidanasa. U cilju praćenja
32 efekta dodvanih preparata vršena je kontrola metaboličkog statusa kroz 11 parametara
33 (glukoza (GLU), ukupni proteini (UP), albumini (ALB), kalcijum (Ca), anorganski fosfor
34 (P), bilirubin (BIL), urea (U), trigliceridi (TRG) i aktivnost enzima alanin-aminotransferaza
35 (ALT), aspartat-aminotransferaza (AST), gama-glutamat transferaza-GGT) svih jedinki u
36 ogledu (0., 75. i 120.dana ogleda) sa posebnim akcentom na merenje koncentracije kortizola.
37 Takođe, na dnevnom nivou merena je temperatura i vlažnost u objektu za smeštaj bikova.
38 Ispitivanje kvaliteta semena svih bikova vršeno je kompjuterski asistiranom tehnikom (CASA
39 system), a citomorfološke promene utvrđene su specifičnim supravitalnim bojenjem po Blomu
40 (eozin-nigrozin). Takođe, ispitivana je povezanost sredinskih faktora (temperatura i vlažnost)
41 preko TH (*temperature-humidity*) indeksa sa aktivnošću antioksidativnih enzima i kvaliteta
42 sperme.

43
44 **Materijal i metode**

45
46 Kao materijal za izradu ove doktorske disertacije korišćeni su uzorci seminalne plazme i
47 krvnog seruma sakupljeni u toku ogleda izvedenog na priplodnim bikovima. Metodom
48 nasumičnog izbora formirane su tri grupe od po 5 bikova, koje se nisu bitno razlikovale prema
49 starosti, proizvodnim rezultatima ni eksterijernim karakteristikama.

50 - I grupa (grupa tretirana Alkoselom) je bila ogledna koja je tokom 120 dana (u periodu od
51 juna do oktobra meseca 2018.god) u okviru koncentrovanog dela obroka dobijala specifično
52 inaktivisane žive ćelija kvasca *Saccharomyces cerevisiae* soj R397 (*Alkosef*[®]-Lallemand,
53 Francuska) sa visokim nivoom organski vezanog selena u vidu L(+) selenometionina u
54 ukupnoj dozi 3 mg/dan.

55 - II ogledna grupa (grupa tretirana Melofeedom) je u okviru koncentrovanog obroka tokom
56 120 dana (u periodu od juna do oktobra meseca 2018.god.) dobijala po 50 µg/jedinki/dan
57 liofilizovanog preparata pulpe dinje *Cucumis melo* (*Melofeed*[®], Lallemand, Francuska).

58 - III grupa je bila kontrolna i tokom ispitivanog perioda nije u obroku dobijala antioksidanse.

59 U skladu sa postavljenim ciljevima i zadacima, bile su primenjene sledeće metode:

1 - analiza koncentrovanih smeša za ishranu priplodnih bikova vršena je u cilju utvrđivanja
2 procenta sirove celuloze, sirovih proteina, sirove masti, pepela kao i sadržaja selena.
3 U koncentrovanim smešama za ishranu bikova određivan je sadržaj sirove vlage, pepela,
4 proteina, masti, celuloze, BEM i selena. Priprema uzorka za analizu vršena je prema
5 proceduri koja je opisana od strane AOAC (1990). Analiza sadržaja osnovnih hranljivih
6 materija vršena je prema sledećim procedurama i to: vlaga SRPS ISO 6496/2001; pepeo
7 SRPS ISO 5984/2002; proteini SRPS ISO 5983/2001; masti SRPS ISO 6492/2001; celuloza
8 prema dokumentovanoj akreditovanoj metodi laboratorije (DM1); dok je sadržaj BEM
9 određivan kalkulatивно. Analiza sadržaja selena u pomenutim smešama vršena je hidridnim
10 postupkom na atomskom apsorpcionom spektrofotometru (Hydride Generation Atomic
11 Absorption Spectrometry – HGAAS) sa pozadinskim deuterijum konektorom, lampa za selen
12 pri radnoj jačini struje od 7 mA, talasnoj dužini 196 nm i širini proreza 1 nm, kao i aparatura za
13 generisanje hidrida selena.

14
15 U cilju procene uticaja ispitivanog preparata na parametre zdravstvenog i/ili metaboličkog
16 statusa, uzimani su uzorci krvi bikova u ogledu.

17 - Na početku ogleđa (0.dan), kao i 75. i 120. dana nakon davanja preparata, punkcijom *vene*
18 *cocigea* uzimani su uzorci krvi (po 6 mL krvi) kontrolne i oglednih grupa bikova radi
19 biohemijskih analiza. Uzorci krvi uzimani su u sterilne vakutajnere bez antikoagulansa
20 (upotrebom serumskih vakutejnera BD Vacutainer, BD – Plymouth, Velika Britanija). Nakon
21 uzimanja, uzorci krvi su transportovani u ručnom frižideru na ledu a zatim centrifugirani na
22 3,000 g tokom 15 minuta. Uzorci krvnih seruma su zamrzavani na -18°C sve do izvođenja
23 analiza.

24 U uzorcima krvnog seruma bikova određivana je koncentracija glukoze, ukupnih proteina,
25 albumina, kalcijuma, anorganskog fosfora, bilirubina, uree, triglicerida i aktivnosti enzima ALT,
26 AST, GGT i kortizola. Koncentracije biohemijskih parametara krvnog seruma određivane su
27 fotometrijski na automatskom biohemijskom analajzeru A15 (Biosystems, Španija). Vrednosti
28 odabranih parametara metaboličkog profila bile su određene kolorimetrijski i upotrebom
29 enzimskih metoda, korišćenjem komercijalnih test paketa istog proizvođača (Biosystems,
30 Španija).

31 Prikupljanje ejakulata svih bikova u ogledu vršeno je metodom veštačke vagine uz poštovanje
32 svih sanitarnih mera (temperatura, skliskost, sterilnost, odgovarajući pritisak). Uzorci su
33 prikupljeni na dvonedeljnom nivou (ukupno sedam ejakulata-skokova po biku). Ejakulat je
34 razređivan komercijalnim razređivačem (Andromed®, Minitube, Nemačka), pakovan u
35 predhodno obeležene pajete zapremine 0,25 mL. Posle ekvibracije na +4°C pajete su
36 duboko zamrznute i čuvane u tečnom azotu (-196°C).

37 U cilju ispitivanja aktivnosti superoksid dismutaze i glutation peroksidaze vršeno je izdvajanje
38 spermalne plazme iz uzoraka duboko zamrznutog semena nakon otapanja centrifugiranjem.

39 Aktivnost superoksid dismutaze u seminalnoj plazmi određivano je spektrofotometrijski
40 pomoću adrenalina (Misra i Fridovich, 1972). Aktivnost glutation peroksidaze u seminalnoj
41 plazmi određivano je metodom po Flohé i Günzler-u (1984) korišćenjem vodonik peroksid
42 (H₂O₂) kao supstrata uz prisustvo redukvnog glutationa (GSH) na spektrofotometru BK-36
43 S390 (BIOBASE).

44 Utvrđivanje kvaliteta semena vršeno je praćenjem nekoliko parametara. Za utvrđivanje
45 koncentracija spermatozoida, pokretljivosti i brzinski parametara (krivolinijska brzina,
46 pravolinijska brzina, prosečna brzina, amplituda lateralnog otklona, površina glave
47 spermatozoida, indeks linearnosti, indeks oscilacije, pravolinijski indeks, frekvencija prelaska
48 pravolinijske putanje u sekundi, manježno kretanje) korišćen je CASA (*Computer Assisted*
49 *Semen Analysis*) sistem (Microptic, Spain).

50 Citomorfološke analize semena su sprovedene specifičnim supravitalnim bojenjem po Blomu
51 u cilju utvrđivanja odnosa živih/mrtvih ćelija, nalaza intaktnih i oštećenih akrozoma,
52 protoplazmatskih kapljica, kao i primarnih, sekundarnih i ukupno patoloških promenjenih formi
53 spermatozoida.

54 Za merenje temperature i vlažnosti u objektu korišćen je data logger AMTAST, AMT-116.

55
56 Dobijeni podaci su **statistički obrađeni** korišćenjem softverskog paketa STATISTICA
57 (StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA). Korišćene su deskriptivne statističke analize za prikaz
58 srednje vrednosti, standardne devijacije, koeficijenta varijacije i intervala varijacije.
59 Kategorijske varijabile su testirane Tukey-ev testom i Fischer-ov LSD testom, dok su za

1 utvrđivanje korelacije među opisanim varijabilama korišćeni i Pearson-ov koeficijent linearne
2 korelacije i Spearman-ov koeficijent korelacije ranga.

3
4 **Rezultati** ispitivanja pokazali su da je u koncentrovanoj smeši korišćenoj za kontrolnu grupu
5 utvrđen statistički značajno veći sadržaj pepela u odnosu na sadržaj u smeši korišćenoj za
6 grupu tretiranu Melofeed-om ($p=0,018$) i grupu tretiranu Alkosel-om ($p=0,034$). Sem toga, u
7 smeši korišćenoj za grupu tretiranu Alkosel-om utvrđen je statistički vrlo značajno veći sadržaj
8 selena u odnosu na sadržaj u smeši korišćenoj za kontrolnu grupu ($p=0,001$) i grupu tretiranu
9 Melofeed-om ($p=0,001$). Prosečne vrednosti za aktivnost SOD u spermalnoj plazmi kontrolne
10 grupe bikova bila je statistički vrlo značajno manja od prosečnih vrednosti za grupe tretirane
11 Melofeed-om ($p<0,001$) i Alkosel-om ($p<0,001$), dok se prosečne vrednosti antioksidansa
12 među tretiranim grupama nisu statistički značajno razlikovale ($p=0,784$). Analizom sedam
13 skokova u okviru grupa je utvrđeno da se prosečne vrednosti za SOD statistički vrlo značajno
14 razlikuju ($p<0,001$) i da aktivnost enzima u okviru svake grupe raste do petog skoka
15 (maksimalna vrednost), a nakon toga opadaju i najniže su u sedmom skoku. Dobijena
16 prosečna vrednost GPx-a za kontrolnu grupu bila je statistički vrlo značajno niža od prosečne
17 vrednosti za grupu bikova tretiranih Melofeed-om ($p=0,001$) i prosečne vrednosti za grupu
18 bikova tretiranih Alkosel-om ($p=0,005$), a prosečne vrednosti za grupe tretirane Melofeed-om i
19 Alkosel-om ne razlikuju se statistički značajno ($p=0,701$). Prosečne vrednosti GPx-a u okviru
20 grupa ostvarene u sedam skokova se statistički vrlo značajno razlikuju ($p<0,001$) i rastu do
21 petog skoka gde postižu maksimalnu vrednost. Na osnovu rezultata analize varijanse sa
22 ponovljenim merenjima utvrđeno je da se prosečne vrednosti za tri izvršena merenja razlikuju
23 značajno ili vrlo značajno u sve tri grupe za albumin, ureu i trigliceride. Za ostale parametre
24 metaboličkog profila i kortizol nije bilo statističke značajnosti između grupa bikova. Analiza
25 parametara brzine dobijenih CASA tehnikom pokazuju da nije uočena statistički značajna
26 razlika među grupama prema prosečnim vrednostima krivolinijske brzine ($p=0,812$)
27 pravolinijske brzine ($p=0,327$) kao i prosečne brzine kretanja ($p=0,315$). Takođe, pokazano je
28 da se grupe bikova ne razlikuju značajno prema prosečnim vrednostima indeksa linearnosti
29 ($p=0,273$), pravolinijskog indeksa ($p=0,697$) i indeksa oscilacije ($p=0,110$). U okviru grupa nije
30 zabeležena značajna razlika u amplitudi lateralnog otklona pomeranja glave ($p=0,906$),
31 frekvencije prelaska pravolinijske putanje ($p=0,965$) kao i u prosečnom manježnom kretanju
32 ($p=0,808$). Po prosečnoj površini glave statistički značajno se razlikuju bikovi iz kontrolne
33 grupe i grupe tretirane Alkosel-om ($p=0,016$). Površina glave u sedmom skoku se ne razlikuje
34 značajno u poređenju sa površinom u četvrtom skoku ($p=0,146$), a vrlo značajno ($p\leq 0,008$) se
35 razlikuje od površine u ostalim skokovima. Prosečno manježno kretanje se nije razlikovalo
36 statistički značajno između grupa bikova ($F=0,217$; $p=0,808$). Procenat pokretnih
37 spermatozoida je statistički značajno manji kod kontrolne grupe bikova u odnosu na grupu
38 tretiranu Melofeed-om u prvom ($p=0,013$) petom ($p<0,001$) šestom ($p<0,001$) i sedmom skoku
39 ($p=0,032$). Isto tako, procenat pokretnih spermatozoida je značajno manji u petom ($p=0,001$) i
40 šestom skoku ($p<0,001$) u kontrolnoj grupi u odnosu na grupu tretiranu Alkosel-om. U
41 pogledu procenta progresivno pokretnih spermatozoida zabeležene su manje vrednosti u
42 kontrolnoj grupi u odnosu na grupu tretiranu Melofeed-om u prvom ($p=0,0101$), petom
43 ($p=0,001$) i šestom skoku ($p=0,003$) dok je značajna razlika između kontrolne i grupe tretirane
44 Alkosel-om zabeležena samo u šestom skoku ($p<0,001$). Ispitivanjem uticaja THI na
45 pokretljivost spermatozoida pokazano je da procenat pokretnih spermatozoida i procenat
46 progresivno pokretnih spermatozoida ne zavisi statistički značajno ($p>0,05$) od THI. Analiza
47 veze između dodavanja antioksidanasa u hranu i procenta pokretnih i progresivno
48 pokretnih spermatozoida po grupama bikova i skokovima ukazuje da u grupi tretiranoj
49 Melofeed-om postoji negativna i vrlo jaka korelacija u drugom skoku ($\rho=-0,975$; $p=0,005$) i vrlo
50 jaka, ali pozitivna u petom skoku ($\rho=0,975$; $p=0,037$) između SOD-a i procenta progresivno
51 pokretnih spermatozoida. U istoj grupi bikova, za peti skok je karakteristična vrlo jaka
52 pozitivna korelacija između SOD-a i procenta pokretnih spermatozoida ($\rho=0,975$; $p=0,037$).
53 Kod grupe bikova tretiranih Alkosel-om nije utvrđena statistički značajna povezanost između
54 posmatranih parametara. Ispitivanjem povezanosti THI i antioksidativnih enzima, uočeno je
55 da sa porastom THI u kontrolnoj grupi dolazi do smanjenja aktivnosti SOD-a, dok u grupama
56 tretiranim Melofeed-om i Alkosel-om dolazi do povećanja aktivnosti SOD-a, ali sve ovo nije
57 statistički značajno ($p>0,05$). Za sve tri grupe bikova je karakteristično da se sa povećanjem
58 THI povećava i vrednost GPx-a, ali to takođe nije statistički značajno ($p>0,05$). Rezultati
59 dvofaktorske kombinovane analize varijanse citomorfoloških parametara, ukazuju da ne
60 postoji statistički značajna razlika između grupa prema ukupnom procentu živih

1 spermatozoida ($F=0,622$; $p=0,554$). Takođe, istom statističkom metodom utvrđeno je da ne
2 postoji statistički značajna razlika između tri grupe bikova prema prosečnom učešću živih
3 spermatozoida sa intaktnim akrozomom (IA) ($F=1,105$; $p=0,363$). Rezultati dvofaktorske
4 kombinovane analize varijanse ukazuju da se ispitivane tri grupe bikova vrlo značajno
5 razlikuju prema procentu živih spermatozoida sa očuvanim akrozomom (OA) ($F=8,622$;
6 $p=0,005$). Na osnovu rezultata Tukey-evog testa, procenat živih spermatozoida sa OA kod
7 bikova tretiranih Alkosel-om vrlo značajno se razlikuje od procenta živih spermatozoida sa OA
8 kod bikova iz kontrolne grupe ($p=0,005$) i statistički značajno u poređenju sa bikovima
9 tretiranim Melofeed-om. Na osnovu rezultata kombinovane dvofaktorske analize varijanse,
10 ispitivane tri grupe bikova ne razlikuju se statistički značajno prema procentu mrtvih
11 spermatozoida ($F=1,376$; $p=0,290$). Istom statističkom metodom je utvrđeno da se ispitivane
12 tri grupe bikova razlikuju statistički značajno prema procentu mrtvih spermatozoida sa IA
13 ($F=5,306$; $p=0,022$). Tukey-ev test ukazuje da je statistički značajno veći procenat mrtvih
14 spermatozoida sa IA utvrđen za grupu bikova tretiranih Melofeed-om u odnosu na grupu
15 bikova tretiranih Alkosel-om. Mrtvih spermatozoida sa IA statistički vrlo značajno je više u
16 prvom, drugom i trećem skoku u odnosu na njihovo učešće u petom skoku ($p<0,001$).
17 Takođe, u prvom i drugom skoku vrlo značajno je veći procenat mrtvih spermatozoida sa IA u
18 odnosu na šesti skok ($p_{16}=0,003$ i $p_{26}=0,007$), a značajno veći u odnosu na sedmi skok
19 ($p_{17}=0,022$ i $p_{27}=0,044$). Posmatrane grupe bikova ne razlikuju se statistički značajno po
20 učešću mrtvih spermatozoida sa OA ($F=0,096$; $p=0,909$).

21 U poglavlju **Diskusija** su komentarisani dobijeni rezultati i poređeni sa podacima iz aktuelnih
22 istraživanja uz objašnjenje sličnosti i razlika. Kandidat iznosi da su primenjeni dodaci hrani
23 ispoljili veći antioksidativni kapacitet u odnosu na kontrolu, što ukazuje na njihove pozitivne
24 efekte u očuvanju fertiliteta bikovskog semena. Sem toga, antioksidansi u hrani su imali
25 pozitivan uticaj na pokretljivost spermatozoida, jer je zabeleženo značajno povećanje
26 pokretljivosti kod tretiranih grupa. Pokazano je da ambijentalna temperatura i vlažnost nisu
27 značajno uticali na kvalitet semena u svim oglednim grupama. Dodavanje navedenih
28 antioksidanasa nije imalo značajnijeg uticaja na parametre metaboličkog profila u svim
29 ispitivanim grupama.

30 U poglavlju **Literatura** kandidat pravilno navodi i u tekstu citira svih 195 odabranih referenci.

31 32 VI ZAKLJUČCI ISTRAŽIVANJA:

- 33
34 1. Aktivnost antioksidativnih enzima u grupi bikova tretiranih Melofeed-om ($p<0,001$) i
35 grupi bikova tretiranih Alkoselom ($p<0,001$) je značajno veća u odnosu na kontrolnu
36 grupu, što nam ukazuje na veći antioksidativni kapacitet spermalne plazme tretiranih
37 grupa.
38
- 39 2. Prosečne vrednosti za tri izvršena merenja razlikuju se značajno ili vrlo značajno u sve
40 tri grupe za albumin ($p_K=0,004$, $p_M=0,020$, $p_A=0,002$), ureu ($p_K=0,021$, $p_M=0,007$,
41 $p_A=0,001$) i trigliceride ($p_K=0,037$, $p_M=0,005$, $p_A=0,034$) što pokazuje da su bikovi u sve
42 tri grupe imali isti način adaptacije na toplotni stres i da su bili u negativnom
43 energetsom bilansu.
44
- 45 3. Dodavanje antioksidanasa nije imalo uticaja na parametre brzine i kretanja
46 spermatozoida. Nije uočena statistički značajna razlika među grupama prema
47 prosečnim vrednostima krivolinijske brzine ($p=0,812$) pravolinijske brzine ($p=0,327$)
48 kao i prosečne brzine kretanja ($p=0,315$). Takođe, pokazano je da se grupe bikova se
49 ne razlikuju značajno prema prosečnim vrednostima indeksa linearnosti ($p=0,273$),
50 pravolinijskog indeksa ($p=0,697$) i indeksa oscilacije ($p=0,110$). U okviru grupa nije
51 zabeležena značajna razlika u amplitudi lateralnog otklona pomeranja glave ($p=0,906$),
52 frekvencije prelaska pravolinijske putanje ($p=0,965$), kao i u prosečnom manježnom
53 kretanju ($p=0,808$).
54
- 55 4. Statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima površine glave spermatozoida je
56 utvrđena između kontrolne grupe i grupe tretirane Alkosel-om ($p=0,016$) dok za ostale
57 ispitivane parametre brzine kretanja nije dokazana značajnost među grupama ($p>0,05$).
58
59

- 1 5. Procenat pokretnih spermatozoida je značajno manji u kontrolnoj grupi u odnosu na
2 grupu tretiranu Melofeed-om i Alkosel-om i to naročito u petom ($p < 0.001$) i šestom
3 skoku ($p \leq 0.001$), kada je efekat toplotnog stresa dugotrajan i intenzivan što ukazuje na
4 pozitivan efekat dodavanja antioksidanasa u grupama tretiranih bikova.
5
6 6. Procenat progresivno pokretljivih spermatozoida je takođe značajno niži u kontrolnoj
7 grupi u odnosu na Melofeed grupu i to u prvom ($p = 0,0101$), petom ($p = 0.004$) i šestom
8 skoku ($p < 0.001$), dok je značajna razlika između kontrolne i Alkosel grupe zabeležena
9 samo u šestom skoku ($p < 0,001$). Dodavanje antioksidanasa imalo je pozitivan uticaj
10 na progresivnu pokretljivost spermatozoida.
11
12 7. Nije uočena značajna povezanost ($p > 0,05$) između THI i aktivnosti antioksidativnih
13 enzima, kao ni povezanost između THI i broja pokretnih spermatozoida kod sve tri
14 grupe bikova.
15
16 8. Značajna povezanost između SOD-a i procenta progresivno pokretnih spermatozoida
17 je zabeležena u drugom skoku ($p = -0,975$; $p = 0,005$) i petom skoku ($p = 0,975$; $p = 0,037$)
18 u grupi tretiranoj Melofeed-om, dok u Alkosel grupi nisu uočene značajne promene.
19 Povećanje SOD i GPx aktivnosti u tretiranim grupama nije bilo dovoljno da ublaži
20 negativan uticaj toplotnog stresa na kvalitet semena.
21
22 9. Analizom citomorfoloških parametara utvrđena je statistička značajnost prema
23 procentualnom učešću živih OA (oštećeni akrozom) spermatozoida ($p = 0,005$) između
24 grupe bikova tretiranih Alkosel-om u odnosu na kontrolnu i grupu tretiranu Melofeed-
25 om, međutim nije uočena statistička značajnost prema procentu živih spermatozoida
26 ($p = 0,554$), kao i prema prosečnom učešću živih IA (intaktni akrozom) spermatozoida
27 ($p = 0,363$).
28
29 10. Ispitivane tri grupe bikova razlikuju se statistički značajno ($p = 0,022$) prema prosečnom
30 procentu mrtvih IA spermatozoida, dok za prosečan procenat mrtvih spermatozoida
31 kao i prosečno učešće mrtvih OA spermatozoida nije utvrđena statistička značajnost
32 među grupama ($p = 0,290$; $p = 0,909$).
33
34 11. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da dodavanje antioksidanasa u hrani
35 za priplodne bikove u uslovima toplotnog stresa dovodi do povećane aktivnosti
36 antioksidativnih enzima u spermalnoj plazmi i posledično do smanjenja štetnih efekata
37 koji prouzrokuju reaktivne kiseonične vrste (ROS).
38
39

40 VII OCENA NAČINA PRIKAZA I TUMAČENJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA:

41
42 Rezultati istraživanja sprovedenih u okviru doktorske disertacije kandidata Slobodana
43 Petrovića su u skladu sa postavljenim ciljevima i zadacima istraživanja, a zaključci su pravilno
44 izvedeni i proizilaze iz dobijenih rezultata.
45
46
47

48 VIII KONAČNA OCENA DOKTORSKE DISERTACIJE:

49 1. Da li je disertacija napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme?

50
51
52 Da. Doktorska disertacija kandidata Slobodana Petrovića je napisana u skladu sa
53 obrazloženjem navedenim u prijavi teme.
54
55

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

57
58
59 Da. Doktorska disertacija kandidata Slobodana Petrovića sadrži sve elemente propisane za
60 završenu doktorsku disertaciju.

1 **3. Po čemu je disertacija originalan doprinos nauci?**
2

3 Izrađena doktorska disertacija pod nazivom „**Ispitivanje efekata dodavanja antioksidanasa**
4 **u hrani na kvalitet semena priplodnih bikova u uslovima toplotnog stresa**“ predstavlja
5 originalni naučno – istraživački rad sa značajnim doprinosom u oblasti andrologije. Doprinos
6 ovog istraživanja ogleda se u iznalaženju novih mogućnosti za prevenciju štetnog uticaja
7 oksidativnog stresa na germinativni epitel testisa bikova u periodu toplotnog stresa. Kroz
8 najmanje invazivan način, dodavanjem antioksidanasa u koncentrovanom obroku, u dužem
9 vremenskom periodu ispitivana je aktivnost SOD-a i GPx-a u spermalnoj plazmi. Rezultati
10 dobijenu u eksperimentu sprovedenom na priplodnim bikovima pokazali su porast aktivnosti
11 SOD-a i GPx-a u grupama bikova tretiranih Alkosel-om i Melofeed-om u odnosu na
12 netretirane jedinke. Ovo istraživanje ima i aplikativan značaj, jer je pružilo informaciju o
13 potencijalnom antioksidativnom efektu ispitivanih dodataka hrani što bi pomoglo veterinarima
14 u primeni najadekvatnijih mera prevencije protiv toplotnog stresa.
15

16
17 **4. Da li je mentor tokom provere originalnosti disertacije utvrdio neopravdano**
18 **preklapanje teksta sa drugim publikacijama:**
19

20 Ne postoji značajnije poklapanje teksta sa drugim publikacijama. Na osnovu provere preko
21 iThenticate programa utvrđeno je 12% preklapanja sa drugim publikacijama.
22

23
24 **IX SPISAK NAUČNIH RADOVA SADRŽINSKI POVEZANIH SA DOKTORSKOM**
25 **DISERTACIJOM U KOJIMA JE DOKTORAND PRVI AUTOR ODNOSNO AUTOR SA**
26 **NAJVEĆIM DOPRINOSOM:**
27

28 **Petrović Slobodan**, Maletić Milan, Lakić Nada, Aleksić Nevenka, Maletić Jelena, Ristanić
29 Marko, Stanimirović Zoran (2020) The Effects of Antioxidants Provided with Feed on Certain
30 Quality Parameters of Bull Semen Under Heat Stress Conditions. *Acta Veterinaria*, 70 (4),
31 453-470.

32 IF₂₀₁₉: 0.693, kategorija: M23
33

34
35
36 **X PREDLOG:**
37

38 **Na osnovu ukupne ocene disertacije, komisija predlaže (odabrati jednu od tri**
39 **ponuđenih mogućnosti):**

40 Na osnovu ukupne ocene disertacije, komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Fakulteta
41 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu da se ova doktorska disertacija prihvati i
42 Slobodanu Petroviću odobri njena odbrana.
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

DATUM
01. 04. 2021.

POTPISI ČLANOVA KOMISIJE

Dr Milan Maletić, docent, mentor 1
Fakultet veterinarske medicine
Univerziteta u Beogradu

Dr Branko Petrujkić, vanredni profesor, mentor 2
Fakultet veterinarske medicine
Univerziteta u Beogradu

Dr Slobodanka Vakanjac, redovni profesor
Fakultet veterinarske medicine
Univerziteta u Beogradu

Dr Vladimir Magaš, vanredni profesor
Fakultet veterinarske medicine
Univerziteta u Beogradu

Dr Aleksandar Milovanović, viši naučni saradnik
Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“