

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број захтева: 277/5-6-4
Датум: 26.02.2014. године

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на извештај о урађеној докторској дисертацији

Молимо да, сходно члану 46. став 5. тачка 4. Статута Универзитета у Београду (“Гласник Универзитета” број 131/06), дате сагласност на извештај о урађеној докторској дисертацији кандидата Невене Максимовић, дипл. инж.

Кандидат **Невена (Љубомир) Максимовић**, дипл. инж., пријавила је докторску дисертацију под називом: «Утицај узраста овна на концентрацију тестостерона, обима тестиса, карактеристике сперме и полно понашање», из научне области Зоотехника.

Универзитет је дана 06.07.2011. године, својим актом број 06-6256/18 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: „**Оцена варијабилности концентрације тестостерона и повезаности са примарним и секундарним полним особинама и понашањем овнова**“.

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације Невене Максимовић, дипл. инж., образована је на седници одржаној 25.12.2013. године, одлуком Факултета број 277/3-5.3., у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област

1. др Славча Христов, редовни професор, Зоохигијена и здравствена заштита домаћих и гајених животиња,
2. др Цвијан Мекић, редовни професор, Одгајивање и репродукција домаћих и гајених животиња,
3. др Милан П. Петровић, научни саветник, Генетика и оплемењивање домаћих животиња,
4. др Мирослав Жујовић, научни саветник, Одгајивање и репродукција домаћих животиња,
5. др Бранислав Станковић, доцент, Зоохигијена и здравствена заштита домаћих и гајених животиња,

Наставно-научно веће факултета прихватило је извештај Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације, на седници одржаној 26.02.2014. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 277/5-6.4.
Датум: 26.02.2014. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 123. Закона о високом образовању и члана 24. Правилника о последипломским студијама и докторату наука, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 26.02.2014. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднела **НЕВЕНА МАКСИМОВИЋ, дипл. инж.** и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«ОЦЕНА ВАРИЈАБИЛНОСТИ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ТЕСТОСТЕРОНА И ПОВЕЗАНОСТИ СА ПРИМАРНИМ И СЕКУНДАРНИМ ПОЛНИМ ОСОБИНАМА И ПОНАШАЊЕМ ОВНОВА».**

II Универзитет је дана 06.07.2011. године, својим актом број 06-6256/18 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у часопису међународног значаја:

Petrovic Caro Violeta, **Maksimovic Nevena**, Petrovic P. M., Petrovic M. M., Ilic Z., Muslic Ruzic Dragana, Mikulec Pesic Dragana, (2012): Effect of inbreeding on body growth traits and sperm DNA fragmentation level in rams. *Animal Science Papers and Reports*, 31, 1, p. 27-33.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору др Славчи Христов, редовном професору, Институту за зоотехнику, Студентској служби и архиви.

**НАСТАВНО - НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Датум: 30. 12. 2013.

Одлуком Наставно-научног већа Факултета од 25.12.2013. године (Одлука број 277/3-5.3), именовани смо у Комисију за оцену урађене докторске дисертације под насловом: "Оцена варијабилности концентрације тестостерона и повезаности са примарним и секундарним полним особинама и понашањем овнова", кандидата Невене Максимовић, дипл. инж. После прегледа завршене докторске дисертације, подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Невене Максимовић, дипл. инж., написана је на укупно 207 стране укључујући прилоге, 144 стране текста, прореда 1,5, у оквиру којих су 19 табела, 15 графикана и две шеме. У докторској дисертацији цитирано је укупно 302 извора литературе.

Докторска дисертација садржи: насловну страну на српском и енглеском језику, информације о ментору и члановима комисије, резиме на српском и енглеском језику, садржај, текст по поглављима, литературу, биографију аутора и изјаве о ауторству, истовестности штампане и електронске верзије и коришћењу. Текст дисертације садржи следећа поглавља: увод (1. - 4. стр.), преглед литературе (5. - 38. стр.), циљ и задаци истраживања (39.-40. стр), материјал и методе истраживања (41. - 43. стр.), резултати истраживања (44. – 78. стр.), дискусија (79. - 112. стр.) и закључци (113. - 116. стр.). После текста по поглављима следе: литература (117. - 144. стр.), прилози (145.- 203. стр.), биографија кандидата (204. стр.), изјава о ауторству (205. стр.), изјава о истовестности штампане и електронске верзије докторске дисертације (206. стр.) и изјава о коришћењу (207. стр.).

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Увод - У овом поглављу докторске дисертације истакнут је значај познавања репродукције оваца за унапређење производње у овчарству. Наглашено је да су сагледавања репродуктивних особина оваца веома значајна, како за истраживаче тако и одгајиваче, у првом реду због рентабилности производње. При анализи рентабилности производње у овчарству потребно је сагледати учешће мужјака и женке у репродукцији, јер сваки са своје стране има одређену веома значајну улогу.

У докторској дисертацији наводи се да сексуалне активности овнова имају веома значајну улогу у репродукцији оваца и да их је с тога потребно детаљно познавати и контролисати како од стране стручњака, тако и одгајвача. Истиче се да је потребно познавати хормонску подлогу сексуалне активности овнова, затим пубертет, производњу сперме, обрасце сексуалног понашања, резултате плодности и узроке неплодности. Наглашава се да је потентни андроген тестиса тестостерон, као најзначајнији полни хормон код овнова, одговоран за развој примарних и секундарних полних особина, регулацију производње сперме и сексуалног понашања.

Даље се наводи да тестостерон има централну улогу у експресији бројних полно условљених особина. Као главни андроген код мужјака, есенцијалан је за нормалну сперматогенезу и експресију секундарних полних особина, попут контроле мускулозности или величине рогова, а доводи се и у снажну везу са репродуктивном агресивношћу, резултатима плодности и полним понашањем.

Услед широког опсега утицаја на особине повезане са репродуктивном компетитивношћу, индивидуалне варијације у секрецији овог хормона разматрају се као кључни чиниоци који подстичу разлике у репродуктивном успеху међу мужјацима, сексуалним активностима овнова, производњи сперме, карактеристикама сексуалног понашања и резултата плодности, због чега је разумевање обрасца и узрока варирања нивоа тестостерона међу њима од великог научног и практичног значаја. Међутим, иако представља кључни хормонски медијатор у експресији бројних морфолошких и физиолошких особина код мушких сисара, фактори који одређују индивидуалне варијације у нивоу тестостерона у циркулацији нису до данас потпуно детерминисани и изучени, нарочито по питању утицаја узраста и телесне масе, корелације између концентрације тестостерона и величине тестиса, концентрације тестостерона и квалитета сперме, као и концентрације тестостерона и полног понашања.

2.2. Преглед литературе - Кандидат је у овом поглављу детаљно приказао резултате истраживања других аутора који су уско везани за циљ и предмет његове дисертације и при томе је користио 302 извора литературе.

Доступни литературни извори груписани су и приказани у оквиру пет потпоглавља докторске дисертације. У оквиру првог потпоглавља (2.1) детаљно су изнети литературни подаци о тестостерону (синтеза, физиолошке функције, механизам деловања, повезаност са сперматогенезом и експресијом полног понашања), у потпоглављу 2.2. детаљно су анализирани релевантни литературни подаци о обиму тестиса, а у поглављу 2.3. литературни подаци о релевантним аспектима сперматогенезе у контексту теме дисертације. У потпоглављу 2.4. изнети су најважнији аспекти полног понашања овнова, а у поглављу 2.5. најзначајнији литературни подаци о плодности оваца.

На основу анализираних литературних података у докторској дисертацији истиче се да и поред великог броја истраживања у области репродукције овнова, односно конкретно концентрације тестостерона и повезаности са примарним и секундарним полним особинама и понашањем овнова, још увек постоје многа неистражена питања и проблеми са којима се у области репродукције овнова сусрећу како истраживачи тако и одгајивачи.

На основу литературних података из области репродукције и понашања овнова, нарочито по питању концентрације тестостерона и повезаности са примарним и секундарним полним особинама и понашањем овнова, може се уочити да су истраживања која се баве овом тематиком вршена код различитих раса оваца, у различитим узрастима и поднебљима, при чему се варијације у наведеним особинама најчешће разматране са аспекта сезоналности.

У овом поглављу дисертације се наводи да секреција тестостерона код здравих мужјака није тонична, већ је карактерише образац епизодних пулсева. Овај образац секреције тестостерона варира од једне до друге животиње и вероватно је у функцији узраста, репродуктивног статуса, здравственог стања и бројних других спољашњих и унутрашњих фактора. У суштини, ниво тестостерона у крви овнова варира у зависности од расе, узраста, исхране, сезоне и манифестације еструса оваца.

У анализираним радовима у дисертацији се наглашава да је тестостерон одговоран за развој секундарних полних карактеристика у смислу конформације тела и сексуалног понашања. Наглашава се да ако се тестостерон секретује у довољним количинама од стране тестиса, мужјак генерално изражава јасне знаке мушкости, док се било која неравнотежа у концентрацији или недостатак овог хормона неповољно одражава на конформацију тела, а

може изазвати и недовољну експресију секундарних полних особина и смањену мускулозност.

Иако је концентрација тестостерона испитивана у радовима који се односе на утицај узраста, затим корелације између концентрације тестостерона и величине тестиса, као и концентрације тестостерона и полног понашања код појединих раса оваца, може се констатовати да до данас не постоје довољно убедљиви резултати који у потпуности објашњавају повезаност између наведених параметара. Уз то наведена тематика углавном је предмет истраживања иностраних аутора, док слична истраживања у нашој земљи, односно нашем климатском поднебљу, готово да и не постоје. Посебно се може уочити одсуство истраживања која се односе на сексуално понашање овнова.

Поред тога, докази о повезаности величине тестиса и карактеристика сперме у досадашњим испитивањима, такође, нису сасвим убедљиви. Док неки аутори, на основу истраживања, указују да је величина тестиса добар показатељ производње сперме, други сумњају у то и на основу сопствених истраживања наводе одсуство везе између ових параметара. На основу литературних података истиче се да се динамичне промене у величини тестиса током раста животиња и између сезона морају посматрати кроз комплексно деловање репродуктивних хормона, нарочито тестостерона, који су контролисани, како генетски, тако и од стране фактора животне средине. Тестиси овнова пролазе кроз сезонску регресију у функцији, при чему је фотопериод један од кључних сигнала за усклађивање репродуктивног циклуса, али потпуни прекид сперматогенезе никада не настаје.

Код одраслих мужијака, тестостерон се сматра најзначајнијим фактором за одржавање нормалне сперматогенезе. Његова концентрација у семиналној плазми је у корелацији са концентрацијом сперматозоида, покретљивошћу сперматозоида и другим карактеристикама сперме. Међутим, иако су бројна истраживања показала тестостерон зависну природу сперматогенезе код различитих животињских врста и људи, и даље постоје опречне дебате по питању нивоа тестостерона који одржава квантитативно нормалну сперматогенезу, а у литератури често наилази на различите закључке. У литератури се наглашава да треба имати у виду да је производња сперме код овнова условљена многим факторима попут расе, узраста, животне средине (дужине дана, температуре и влажности ваздуха) и организације производње, што резултира и значајним варијацијама у карактеристикама сперме.

У бројним радовима сматра се да су манифестације полног нагона регулисане секрецијом хормона тестостерона, а наводи се и да постоје разлике између раса. У истраживањима се даље наводи фундаментална улога узраста и расе овна на експресију елемената сексуалног понашања. Такође, уочене су и сезонске варијације у интензитету манифестације полног нагона овнова, што се доводи у везу са променама у лучењу тестостерона и величини тестиса. Разумевање обрасца полног понашања овнова значајно је не само са аспекта селекције квалитетних приплодњака, већ и у циљу утврђивања што бољег односа приплодњака и броја плоткиња за парење.

2.3. Основни циљ и задаци истраживања - Имајући у виду изнето постављени су циљеви истраживања у овој докторској дисертацији. Основни циљ истраживања у овој докторској дисертацији био је да се испита варијабилност концентрације тестостерона у крвном серуму овнова и повезаност са примарним и секундарним полним особинама и понашањем овнова, односно обимом тестиса, телесном масом, квалитетом сперме, полним понашањем овнова у оквиру интеракција мушко-женско, полним понашањем овнова у оквиру интеракције мушко-мушко и резултатима плодности оваца.

2.4. Материјал и методе истраживања – У овом поглављу кандидат је детаљно приказао материјал и методе истраживања. У њему се наводи да су истраживања у овој докторској дисертацији извршена на експерименталној овчарској фарми Института за

сточарство у Земуну. У истраживањима је било укључено 20 овнова и 76 оваца Мис популације. Сва мушка грла била су по типу рођења близанци, истог узраста. Грла су уведена у истраживање у узрасту од 3 месеца, а истраживање је завршено у узрасту овнова од 18 месеци. Женска грла, укључена у истраживање, била су старости од 3 до 5 година.

Од момента увођења овнова у истраживање, телесна маса и обим тестиса утврђивани су једном месечно. Обим тестиса утврђиван је пантљиком на најширем делу тестиса, односно делу на коме је обим овог органа највећи.

Узорци крви за утврђивање концентрације тестостерона у крвном серуму узимани су на свака два месеца (у узрасту од 3 до 17 месеци; 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 и 17. месеца). Анализа концентрације тестостерона у крвном серуму извршена је радиоимунолошким методом, уз употребу комерцијалног кита (RIA, immulite® total testosterone, Siemens healthcare diagnostic inc., UK).

За анализу квалитета сперме узорци семена овнова узимани су у узрасту овнова од 9 до 17 месеци на свака два месеца, применом методе електроејакулације. Од параметара квалитета сперме анализирани су: запремина ејакулата, концентрација сперматозоида у ејакулату, покретљивост сперматозоида, проценат живих сперматозоида у ејакулату и проценат патолошких форми сперматозоида у ејакулату. Запремина ејакулата овнова одређивана је одмах приликом узимања градуисаним спермосабирачем, покретљивост сперматозоида и концентрација сперматозоида анализирани су уз примену компјутерски асистираних анализе сперме (CASA-ISAS-Integrated system for the analysis of semen, V.1.2., Proiser, Spain), док су проценат живих сперматозоида и проценат патолошких облика сперматозоида у ејакулату утврђени методом бојења по Blom-у (1981).

Аспекти полног понашања овнова праћени су сагледавањем интеракција мушко-женско и мушко-мушко на свака два месеца у узрасту овнова од 3 до 15 месеци. Интеракције мушко-женско праћене су појединачно увођењем овна у бокс са овцом која није у еструсу, а која је била спутана у боксу, у трајању од 20 минута, директним посматрањем и бележењем свих релевантних активности, као и снимањем камером (према методологији из рада Ungerfeld-a и Gonzalez-Pensado-a, 2008). Ове интеракције обухватале су следеће елементе понашања: учесталост остваривања непосредних контаката њушењем ано-гениталне регије оваца, учесталост испољавања реакције нестрпљивог лупкања ногом овна, учесталост испољавања Flehman-ове реакције (реакција подизања горње усне), учесталост покушаја скокова, трајање релевантних активности (активности усмерених директно ка овци) и трајање нерелевантних активности (активности усмерених на храну, воду, одмор, интеракције са околином). У оквиру интеракције мушко-мушко регистрована је учесталост покушаја скокова. Интеракције мушко-мушко праћене су у групи овнова у трајању од 8 часова дневно снимањем камером, а регистрована је учесталост покушаја скокова.

Овнови су коришћени у приплоду први пут у узрасту од 13 месеци, а затим и са 18 месеци старости. Први припуст извршен је вансезонски у априлу месецу уз примену индукције и синхронизације еструса оваца хормоналном методом. У ту сврху употребљени су вагинални сунђери импрегнирани флуорогестон-ацетатом уз апликацију PMSG-а. За припуст је употребљено 6 овнова и 43 овце. Други припуст обављен је у току природне сезоне парења, у периоду од краја августа до прве половине октобра месеца. За откривање оваца у еструсу употребљени су овнови пробачи, а у припуст је било укључено 6 истих овнова из првог припуста и 33 овце. Од репродуктивних показатеља праћени су: проценат ојагњених оваца, проценат јалових оваца, дужина трајања бременитости, број рођене јагњаци по овци, телесна маса јагњаци на рођењу, телесна маса јагњаци са 30 дана узраста и број мртворођене јагњаци.

Сходно истраживању, статистичка анализа добијених резултата извршена је применом параметарских и непараметарских тестова помоћу статистичког пакета Statistica for windows

7 (Stat. Soft. Inc.). Тестирана је једнакост варијанси анализираних третмана Leven's тестом и у складу са добијеним резултатима, а анализа статистичке значајности разлика просечних вредности телесне масе овнова, обима тестиса овнова и параметара плодности оваца (дужина бременитости, број јагњади/овци, број мртворођене јагњади/овци, телесна маса јагњади на рођењу и телесна маса јагњади у узрасту од 30 дана) извршено је методом анализе варијансе (ANOVA) (Малетић, 2005), а појединачна поређења аритметичких средина спроведена су употребом теста најмање значајне разлике (LSD тест). Проценат ојагњених и јалових оваца анализиран је помоћу два теста. Испитивање статистичке значајности разлика просечних вредности концентрације тестостерона, параметара квалитета сперме, као и аспеката полног понашања у оквиру интеракција мушко-женско и мушко-мушко извршено је Kruskal-Wallis-овим тестом, а појединачна поређења средина спроведена су Mann-Whitney-евим U тестом. Релативна зависност испитиваних особина утврђена је Pearson-овим коефицијентом корелације, чија је значајност тестирана. Анализе су урађене за праг значајности од 5% и 1%, а утврђени резултати су приказани преко основних показатеља дескриптивне статистике (аритметичка средина и њена стандардна грешка, медијана, интервал варијације и коефицијент варијације).

2.5. Резултати истраживања - Резултати истраживања у докторској дисертацији приказани су у оквиру осам главних потпоглавља и више припадајућих потпоглавља. Табеларни и графички прикази резултата дати су прегледно, а текстуални део је јасно и веома концизно изложен.

У спроведеним истраживањима варијабилности концентрације тестостерона и повезаности са примарним и секундарним полним особинама и понашањем овнова утврђени су резултати од којих се најзначајнији наводе у даљем тексту.

Просечне вредности концентрације тестостерона у крвном серуму овнова кретале су се у интервалу од 1,83 нг/мл до 13,28 нг/мл, а тренд кретања вредности концентрације овог андрогеног хормона у испитиваном периоду карактерисала је изражена варијабилност. На основу обрачунатих вредности коефицијената варијације уочена је висока варијабилност концентрације тестостерона која је износила од 30,91% до 100,64%. Установљен је најпре тренд линеарног повећања вредности концентрације тестостерона у узрасту од 3. до 7. месеца, после тога уследило је смањење у узрасту од 9 и 11 месеци, које је затим праћено израженим варијацијама у последња три периода испитивања, уз нагле скокове у 13. и 17. месецу и пад вредности у 15. месецу.

Просечне вредности обима тестиса овнова износиле су 17,42 - 36,02 цм, а просечне вредности телесне масе 30,62 - 87,95 кг. Најмања просечна вредност обима тестиса овнова (17,42 цм) утврђена је на почетку истраживања, у узрасту од 3 месеца, док је највећа просечна вредност обима тестиса установљена у њиховом узрасту од 13 месеци (36,02 цм). Вредности обима тестиса показале су статистички високу значајност ($P < 0,01$) у односу на узраст. Коефицијент варијације овог параметра кретао се од 5,14 до 12,57%. Најнижа појединачна вредност (14 цм) утврђена је у узрасту овнова од 3 месеца, док је највећа појединачна вредност утврђена у узрасту од 13 месеци (41 цм). Постепено линеарно повећање обима тестиса уочено је у узрасту овнова од 3 од 7 и 8 месеци (у периоду октобар - новембар), након чега је у периоду до 11 месеци обим тестиса био релативно константан уз благе флукуације и извесно благо смањење вредности у узрасту од 9. до 11. месеци, током зимских месеци. У узрасту овнова од 12 и 13 месеци (током марта и априла) утврђено је поновно значајно повећање вредности обима тестиса, након чега су вредности биле релативно константне током летњих месеци, све до краја испитивања односно узраста овнова од 18 месеци.

Просечне вредности телесне масе овнова кретале су се од 30,62 кг (у узрасту 3 месеца) до 87,95 кг (у узрасту 13 месеци). Утицај узраста на телесну масу овнова био је статистички

значајан на нивоу $P < 0,01$. Коефицијент варијације овог параметра кретао се од 6,66 до 15,68%. Телесна маса повећавала се континуирано до узраста овнова од 13 месеци, када је и достигла највећу вредност од 87,95 кг, након чега је варијала унутар граница од 84,05 до 87,62 кг, без статистичке значајности. Утврђен је линеарни тренд повећања телесне масе овнова од почетка периода испитивања до узраста овнова од 13 месеци, након чега је вредност овог параметра била релативно константна до краја испитиваног периода.

Утврђен је статистички високо значајан ($P < 0,01$) утицај узраста овнова на вредности концентрације тестостерона, обим тестиса и телесну масу.

Просечне вредности испитиваних параметара сперме овнова износиле су: запремина ејакулата 1,01 - 1,70 мл, концентрација сперматозоида $1,84 - 2,76 \times 10^9$ /мл, покретљивост сперматозоида 60,14 - 70,88 %, живи сперматозоиди у ејакулату 68,80 - 86,90% и патолошки облици сперматозоида у ејакулату 5,70 - 13,85%. Од испитиваних параметара сперме запремина ејакулата и % живих сперматозоида у ејакулату били су статистички под значајним утицајем узраста овнова.

Највећа просечна вредност запремине ејакулата (1,71 мл) установљена је у узрасту овнова од 13 месеци (у априлу), односно у узрасту од 15 месеци (јун) када је износила просечно 1,70 мл. У последњем испитиваном периоду, у августу месецу, када су овнови били у узрасту од 17 месеци, вредност овог параметра сперме износила је просечно 1,40 мл. Највећа вредност живих сперматозоида код овнова (86,90%) утврђена је током испитивања у априлу месецу, када су били узраста 13 месеци. Проценат живих сперматозоида овнова који је утврђен у овом узрасту, као и у узрасту од 17 месеци (85,10%) био је статистички значајно различит од вредности утврђених у остала три периода на нивоу $P < 0,05$. Коефицијент корелације за овај параметар квалитета сперме кретао се од 10,74 до 19,88%. Најнижа појединачна вредност (48%) утврђена је у узрасту од 15 месеци, а највећа у узрасту од 13 месеци, када је износила 98%.

Утврђен је статистички значајан утицај узраста овнова на све аспекте њиховог полног понашања у оквиру интеракција мушко-женско. Уочено је да су све испитиване активности полног понашања у узрасту овнова од 3 и 5 месеци биле веома слабо изражене, док је значајнија полна активност уследила од узраста од 7. месеци. Најниже вредности испитиваних аспеката полног понашања који се односе на њушење ано-гениталне регије (3,05) и покушај скока (0,00) утврђене су на почетку испитиваног периода, односно у узрасту овнова од 3 месеца. Значајно нагло повећање учесталости обе испитиване полне активности установљено је у периоду октобар-децембар. Обе полне активности достигле су максималне вредности (15,60 и 15,45) при узрасту овнова од 13 месеци (током априла месеца). Полно понашање овнова у оквиру интеракције мушко-мушко, изражено кроз учесталост скокова, било је статистички значајно зависно од узраста ($P < 0,05$). Укупно је регистровано 175 полних интеракција за цео период испитивања, а највећа активност утврђена је у узрасту овнова од 5 месеци. Тренд кретања ове полне активности био је изразито варијабилан.

Уочено је да су најизраженије вредности концентрације тестостерона, обима тестиса, параметара квалитета сперме и аспеката полног понашања у оквиру интеракција мушко-женско код овнова утврђене током априла месеца, када су они били у узрасту од 13 месеци и када је извршен вансезонски припуст.

Резултати плодности оваца током вансезонског и сезонског припуста са испитиваним овновима износили су, редом: ојагњених оваца 69,77% и 100% ($P < 0,01$), дужина бременитости 146,63 дана и 149,18 дана ($P < 0,01$), број јагњади по овци 2,33 и 1,75 ($P < 0,05$), телесна маса јагњади на рођењу 3,40 и 4,64 кг ($P < 0,01$), телесна маса јагњади са 30 дана 10,71 и 12,35 ($P < 0,01$) и број мртворођене јагњади 15 и 2 ($P < 0,05$).

Утврђена је средње јака позитивна корелација између концентрације тестостерона и обима тестиса ($r = 0,52$), као и између концентрације тестостерона и телесне масе овнова

($r=0,40$). Обе корелације су биле статистички високо значајне ($P<0,01$). Установљена је јака позитивна корелација између телесне масе и обима тестиса овнова ($r=0,81$; $P<0,01$). Параметри квалитета сперме били су у слабој корелацији са концентрацијом тестостерона, слабој до умереној корелацији са обимом тестиса и у слабој корелацији са телесном масом овнова. Аспекти полног понашања у оквиру интеракција мушко-женско били су у слабој до умереној корелацији са концентрацијом тестостерона, умереној корелацији са обимом тестиса и слабој до умереној корелацији са телесном масом овнова. Све испитиване корелације, изузев корелације између тестостерона и Flehmen-ове реакције, односно тестостерона и скокова, биле су статистички значајне ($P<0,05$; $P<0,01$). Полно понашање овнова у оквиру интеракције мушко-мушко било је у слабој позитивној корелацији са концентрацијом тестостерона ($r=0,18$; $P<0,05$), слабој позитивној корелацији са обимом тестиса ($r=0,07$; $P>0,05$) и слабој негативној корелацији са телесном масом овнова ($r=-0,02$; $P>0,05$). Резултати плодности били су у слабој корелацији са концентрацијом тестостерона, обимом тестиса и телесном масом овнова. Између резултата плодности оваца и параметара квалитета сперме овнова утврђене су слабе до умерене корелације.

2.6. Дискусија - На основу резултата истраживања у докторској дисертацији и поређења са резултатима других аутора може се констатовати да је секреција тестостерона варијабилног карактера и условљена различитим унутрашњим и спољашњим чиниоцима. Истраживања су несумњиво показала да узраст овнова утиче на секрецију тестостерона, као и да постоји сезонски утицај, с тим да је веома значајан допринос олфакторних стимулуса.

У испитивањима је утврђено да је концентрација тестостерона била статистички значајно зависна од узраста овнова ($P<0,01$). Као што је наглашено у резултатима истраживања током прва три периода испитивања, у узрасту овнова од 3 до 7 месеци (јун – октобар), вредност овог параметра повећавала се линеарно, затим је дошло до пада његове вредности у узрасту од 9 и 11 месеци, током децембра и фебруара, да би у априлу месецу, када су овнови били у узрасту од 13 месеци, дошло до значајног и наглог повећања. Након тога, у јуну месецу, уследило је веома изражено смањење вредности, а у последњем периоду испитивања, у августу, поново је дошло до веома значајног наглог скока када је вредност овог параметра достигла максимум.

Варијабилни карактер концентрације тестостерона у крвној плазми овнова, као и значајан утицај узраста овнова, у узрасту од 2 до 14 месеци утврђена су и у истраживањима других аутора, са најмањим установљеним вредностима у узрасту од 80 до 100 дана и највећим у узрасту од 260 и 300 дана, што указује да се продукција тестостерона мења током живота овнова, уз повећање нивоа овог андрогеног хормона од рођења до достизања пуне полне зрелости и смањење након тог периода.

Линеарно повећање вредности обима тестиса утврђено је до узраста од 7 месеци. Након тога, идући ка крају природне сезоне парења и током зимских месеци (новембар-фебруар), установљено је благо смањење вредности овог параметра које није било статистички значајно. Значајно повећање уследило је од марта месеца, а највећа просечна вредност утврђена је у априлу месецу, у узрасту од 13 месеци. Имајући у виду резултате истраживања у овој докторској дисертацији и истраживања других аутора може се потврдити позитиван утицај узраста овнова на обим тестиса.

Не постоје литературни подаци о телесном развоју овнова Мис популације. Поређењем резултата може се констатовати сличан линеарни тренд повећања телесне масе овнова установљен од стране других аутора код других раса током узраста 2 до 14 месеци. Резултати истраживања у овој дисертацији такође показују да је у узрасту од 14 месеци утврђено извесно смањење телесне масе за око 4 кг у односу на вредност утврђену у узрасту од 13 месеци, што је последица вансезонског припуста и контакта овнова са естричним женкама током претходног месеца. Резултати овог истраживања указују да овнови током периода

парења губе на телесној маси, с тим да у појединим случајевима губици могу износити и до 15%. Овакав резултат у вези смањења телесне масе овнова потврђују истраживања спроведена од стране других аутора који на основу сопствених резултата наводе да парење има негативан утицај на масу тела и телесну кондицију овнова и да је присутна тенденција повећаног дневног губитка њихове телесне масе са повећањем броја парења, како у време најинтензивније сексуалне активности, тако и током читавог периода парења.

На основу утврђених вредности параметара квалитета сперме у овом истраживању, имајући у виду и истраживања других аутора, може се уочити да је квалитет сперме комплексна особина, условљена бројним различитим утицајима. Када се запремина ејакулата повећава или смањује, те промене настају углавном због промена у количини течности које луче аксесорне полне жлезде и пасеменици, који су зависни од андрогена. Запремина ејакулата, као параметар сам за себе, не мора бити адекватан показатељ квалитета семена, јер је могуће да квалитет семена овнова опада са повећањем запремине ејакулата, али је битан параметар као саставни део укупне процене квалитета сперме. У случајевима када је концентрација сперматозоида на нормалном нивоу, веће запремине ејакулата значе и већи укупан број сперматозоида у ејакулату, а самим тим и већи број доза који се може користити за осемењавање.

Концентрација сперматозоида у ејакулату овнова имала је просечне вредности од $1,84 \times 10^9$ /мл, у узрасту од 11 месеци (фебруар), до $2,76 \times 10^9$ /мл, у узрасту од 17 месеци (август). Вредности концентрације сперматозоида овнова су варирали током читавог периода испитивања, односно наизменично су се смењивали периоди смањења и повећања вредности овог параметра сперме. Зависност концентрације сперматозоида у ејакулату од узраста није била статистички значајна ($P > 0,05$). Утврђене вредности концентрација сперматозоида у ејакулату овнова су у складу са вредностима које су установили други аутори у својим истраживањима. На основу анализе резултата се указује да концентрација сперматозоида представља функцију више параметара који укључују степен сексуалне спремности овна, узраст овна, сезону, здравствено стање овна, хранидбени статус овна, фреквенцију узимања сперме и производни капацитет овна. С обзиром да постоји директна веза између броја сперматозоида и резултата плодности оваца, важно је да се концентрација сперматозоида у ејакулату одређује што прецизније, уз сагледавање свих фактора који могу испољити утицај.

Покретљивост сперматозоида у испитиваном периоду овнова кретала се од 60,14% до 70,88%. Најнижа вредност покретљивости сперматозоида утврђена је у првом периоду, у децембру месецу, када су овнови били у узрасту од 9 месеци, а највиша у априли месецу, односно у узрасту овнова од 13 месеци. У појединим периодима испитивања утврђени су изражени интервали варијације због разлика у појединачним вредностима овог параметра код различитих овнова, што упућује на закључак да и индивидуалне карактеристике имају значајан утицај на покретљивост сперматозоида у ејакулату. Проценат живих сперматозоида у ејакулату био је најмањи при првом испитивању, у децембру месецу, у узрасту овнова од 9 месеци, када је износио просечно 68,80%. Највећа вредност живих сперматозоида (86,90%) утврђена је током испитивања у априлу месецу, када су овнови били узраста од 13 месеци. Проценат живих сперматозоида који је утврђен у овом узрасту овнова, као и у узрасту од 17 месеци (85,10%) био је статистички значајно различит од утврђених вредности овог параметра у протекла три периода испитивања на нивоу $P < 0,05$. Од почетка периода испитивања до узраста од 13 месеци овнова забележен је раст процента живих сперматозоида у ејакулату, након чега је дошло до смањења вредности у узрасту од 15 месеци, а затим је у узрасту од 17 месеци забележено повећање, до нивоа који је утврђен у 13. месецу. Тренд повећања вредности овог параметра са узрастом овнова показала су и истраживања других аутора. Редукован проценат покретљивости, уз висок проценат живих сперматозоида, може указати на структуралне или метаболичке абнормалности сперме, које

потичу од поремећаја тестикуларне функције или фактора који смањују покретљивост у семиналној плазми.

Жеља за парењем је веома варијабилна међу овновима, а разлике у полном понашању међу овим приплодњацима су одавно уочене од стране бројних аутора. Тестови полних перформанси су веома корисни у описивању и предвиђању разлика у полним перформансама међу мужјацима. Постоји неколико устаљених облика понашања, као што је већ наглашено, које ован може испољити непосредно пре првог скока. То укључује њушење ано-гениталне регије овце, грицкање и лизање бока овце, гурање бока овце раменим и грудним делом, нестрпљиво лупкање предњом ногом о под, као и подизање главе и врата уз истовремено подизање горње усне као реакције на мирис урина овце, познато под називом Флехмен реакција. Овај сет прекопулаторних активности, уз сам чин копулације, може дати добар увид у полну активност приплодњака, међутим, он не мора увек и код сваког овна бити испољен у потпуности, односно не морају бити заступљене све наведене активности.

На основу резултата испитивања у докторској дисертацији и поређења са истраживањима других аутора може се констатовати да сексуални облици понашања овнова имају своју основу и везу са репродуктивном функцијом, с обзиром на то да постоји веза са пубертетом и репродуктивном сезоналношћу, као и због тога што се они могу стимулисати присуством женки у еструсу. Сви испитивани аспекти полног понашања показали су готово идентичан тренд повећања вредности током прва 4 периода испитивања, односно у узрасту овнова од 3. до 9. месеца (јун – децембар), након чега је у 11. месецу (фебруар) уследио изражен пад, а затим и изражени и врло значајан скок активности у узрасту од 13 месеци, када је и утврђена највећа вредност ових параметара, да би у последњем периоду (17 месеци) у мају месецу, поново дошло до извесног смањења активности. Делимичан изузетак представља активност која се односи на Флехменову реакцију, чија је највећа вредност утврђена у узрасту од 9. месеци, након чега је постепено опадала до краја периода испитивања. Све наведене полне активности биле су статистички значајно зависне од узраста на нивоу $P < 0,05$. Ови резултати су у складу са истраживањима других аутора који су пратили развој и испољавање полног понашања овнова старости од 6 недеља до 9 месеци, у којима се истиче да се испољавање полног понашања усмереног према овцама ван еструса прогресивно повећава са узрастом.

Просечна дужина бременитости оваца након вансезонског припуста овновима износила је 146,63 дана, са варијацијама од 141 до 152 дана, а након сезонског припуста просечно 149,18 дана, са варијацијама од 146 до 151 дан и уз статистички високо значајну разлику ($P < 0,01$). У прилог овим резултатима иду истраживања која су спровели други аутори у којима се наводи да хормонски третман индукције и синхронизације репродуктивног циклуса оваца скраћује дужину гестације. У истраживањима других аутора установљене су разлике у дужини гестације између хормонски третираних и контролних плоткиња од 11 дана, али и разлике између третираних плоткиња у зависности од дозе апликованог PMSG-а.

Тумачењем утврђених корелативних односа у овом истраживању и истраживањима других аутора намеће се потреба да се у наредним испитивањима веза између тестостерона и квалитета сперме овнова првенствено сагледа са становишта минималних нивоа овог хормона у крвном серуму који су потребни за нормалну сперматогенезу. Иста констатација важи и за везу између обима тестиса и квалитета семена. По питању повезаности телесне масе са параметрима квалитета семена у наредним истраживањима би требало укључити и оцену телесне кондиције у анализу, посебно код грла која су већ полно зрела.

С обзиром на утврђену средње јаку корелацију између телесне масе овнова и испитиваних аспеката полног понашања, а имајући у виду резултате других аутора - по којима крупнији мужјаци могу монополизовати приступ женкама, требало би детаљније сагледати овај аспект. У том погледу требало би тестове анализе понашања спроводити у групним условима, уз укључивање већег броја овнова ради сагледавања компетитивности.

Такође, требало би испитати везу између јачине либида и масе тела овнова у оквиру тестова са женкама у еструсу.

2.7. Закључак - На основу добијених резултата кандидат је извео закључке које је приказао по групама испитиваних особина у овом поглављу докторске дисертације.

Просечне вредности концентрације тестостерона у крвном серуму овнова кретале су се у интервалу од 1,83 нг/мл до 13,28 нг/мл, а тренд кретања вредности концентрације тестостерона у испитиваном периоду карактерисала је изражена варијабилност. У узрасту овнова од 3 до 7 месеци (јун – октобар), вредност овог параметра повећавала се линеарно, затим је дошло до пада његове вредности у узрасту од 9 и 11 месеци, током децембра и фебруара, да би у априлу, када су овнови били у узрасту од 13 месеци, дошло до значајног и наглог повећања.

Просечне вредности обима тестиса овнова износиле су 17,42 - 36,02 цм, а просечне вредности њихове телесне масе 30,62 - 87,95 кг. Утврђен је статистички високо значајан ($P<0,01$) утицај узраста на вредности концентрације тестостерона, обима тестиса и масе тела овнова.

Просечне вредности испитиваних параметара сперме овнова износиле су: запремина ејакулата 1,01 - 1,70 мл, концентрација сперматозоида 1,84 - $2,76 \times 10^9$ /мл, покретљивост сперматозоида 60,14 - 70,88%, живих сперматозоида у ејакулату 68,80 - 86,90% и патолошки облици сперматозоида у ејакулату 5,70 - 13,85%. Од свих параметара сперме, једино су запремина ејакулата и % живих сперматозоида у ејакулату били статистички под значајним утицајем узраста овнова.

Утврђен је статистички значајан утицај узраста на све аспекте полног понашања овнова у оквиру интеракција мушко-женско. Уочено је да су у узрасту овнова од 3 и 5 месеци све испитиване полне активности биле веома слабо изражене, док је значајнија полна активност уследила од 7. месеца. Полно понашање овнова у оквиру интеракције мушко-мушко, изражено кроз учесталост скокова, било је статистички значајно зависно од узраста ($P<0,05$). Укупно је регистровано 175 полних интеракција за цео период испитивања, а највећа активност утврђена је у узрасту овнова од 5 месеци. Тренд кретања ове активности био је изразито варијабилан.

Уочено је да су најизраженије вредности концентрације тестостерона, обима тестиса, параметара квалитета сперме и аспеката полног понашања у оквиру интеракција мушко-женско утврђене код овнова током априла месеца, када су овнови били узраста 13 месеци и када је извршен вансезонски припуст оваца.

Резултати плодности оваца током вансезонског и сезонског припуста са испитиваним овновима износили су, редом: ојагњених оваца 69,77% и 100% ($P<0,01$), дужина бременитости 146,63 и 149,18 дана ($P<0,01$), број јагњади по овци 2,33 и 1,75 ($P<0,05$), телесна маса јагњади на рођењу 3,40 и 4,64 кг ($P<0,01$), телесна маса јагњади са 30 дана 10,71 и 12,35 ($P<0,01$) и број мртворођене јагњади 15 и 2 ($P<0,05$).

Утврђена је средње јака позитивна корелација између концентрације тестостерона и обима тестиса ($r=0,52$), као и између концентрације тестостерона и телесне масе овнова ($r=0,40$). Обе корелације су биле статистички високо значајне ($P<0,01$). Установљена је јака позитивна корелација између телесне масе и обима тестиса овнова ($r=0,81$); ($P<0,01$). Параметари квалитета сперме били су у слабој корелацији са концентрацијом тестостерона, слабој до умереној корелацији са обимом тестиса и у слабој корелацији са телесном масом овнова. Аспекти полног понашања у оквиру интеракција мушко-женско били су у слабој до умереној корелацији са концентрацијом тестостерона, умереној корелацији са обимом тестиса и слабој до умереној корелацији са телесном масом овнова. Све испитиване корелације, изузев везе између тестостерона и Флехмен реакције, односно тестостерона и скокова, биле су статистички значајне ($P<0,05$; $P<0,01$). Полно понашање овнова у оквиру

интеракције мушко-мушко било је у слабој позитивној корелацији са концентрацијом тестостерона ($r=0,18$; $P<0,05$), слабој позитивној корелацији са обимом тестиса ($r=0,07$; $P>0,05$) и слабој негативној корелацији са телесном масом овнова ($r=-0,02$; $P>0,05$). Резултати плодности били су у слабој корелацији са концентрацијом тестостерона, обимом тестиса и телесном масом овнова. Између резултата плодности и параметара квалитета сперме утврђене су слабе до умерене корелације.

Имајући у виду целокупно истраживање у овој дисертацији може се закључити да су резултати истраживања показали да постоји сложена повезаност варијабилности концентрације тестостерона, примарних и секундарних полних особина и понашања овнова, односно обима тестиса, телесне масе, квалитета сперме, полног понашања овнова у оквиру интеракција мушко-женско, полног понашања овнова у оквиру интеракције мушко-мушко и резултата плодности оваца. Тестостерон има значајно место у репродукцији овнова посебно када су у питању минималне концентрације овог хормона које су потребне за одржавање оптималне сперматогенезе. Контакт овнова са женкама у еструсу стимулативно је деловао на све испитиване репродуктивне особине, укључујући и полно понашање, што наводи на закључак да и олфакторни стимулуси у значајној мери доприносе репродуктивном развоју и сазревању мужијака. Слабе до умерене корелације између резултата плодности и концентрације тестостерона, обима тестиса, телесне масе овнова и параметра квалитета сперме наводе на закључак да резултати плодности не зависе само од фертилне способности приплодњака, него су, у значајној мери условљени и стопом овулације плоткиње, као и стопом преживљавања ембриона.

Генерално, утврђена повезаност између испитиваних репродуктивних карактеристика, иако не увек јака, указује на комплексност репродуктивне функције овнова и њену вештуру међузависност.

2.8. Литература - У дисертацији је цитирано 302 референци. Цитиране референце у докторској дисертацији у потпуности одговарају предмету и програму истраживања, постављеним циљевима истраживања и тумачењу утврђених резултата.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација кандидата Невене Максимовић, дипл. инж. представља самостални научни рад у области одгајивања и репродукције, као и у области зоохигијене и здравствене заштите домаћих и гајених животиња. Тема докторске дисертације је актуелна и значајна за науку и праксу у наведеним областима. Истраживања у дисертацији су врло значајна будући да је кандидат детаљно и темељито сагледао и анализирао варијабилност концентрације тестостерона и повезаност са примарним и секундарним полним особинама и понашањем овнова. Испитивања су обухватила најзначајније репродуктивне параметре овнова односно концентрацију тестостерона у крвном серуму, обим тестиса, телесну масу, квалитет сперме, полно понашање овнова у оквиру интеракција мушко-женско, полно понашање овнова у оквиру интеракције мушко-мушко и резултате плодности оваца. На основу резултата истраживања и поређења са бројним литературним изворима истакнути су најзначајнији аспекти варијабилности концентрације тестостероне, као и запажања о повезаности са примарним и секундарним полним особинама и понашањем овнова.

Кандидат је систематски проучио резултате истраживања других аутора, дефинисао одговарајући предмет и програм истраживања, поставио циљ, основне хипотезе, спровео истраживања, прикупио податке, применио адекватне математичко - статистичке методе за обраду и систематски анализирао и оценио добијене резултате. Добијени резултати показују да је утврђена средње јака позитивна корелација између концентрације тестостерона и обима тестиса ($r=0,52$), као и између концентрације тестостерона и телесне масе овнова ($r=0,40$).

Установљена је јака позитивна корелација између телесне масе и обима тестиса овнова ($r=0,81$); ($P<0,01$). Параметари квалитета сперме били су у слабој корелацији са концентрацијом тестостерона, у слабој до умереној корелацији са обимом тестиса и у слабој корелацији са телесном масом овнова. Аспекти полног понашања у оквиру интеракција мушко-женско били су у слабој до умереној корелацији са концентрацијом тестостерона, умереној корелацији са обимом тестиса и слабој до умереној корелацији са телесном масом овнова. Све испитиване корелације, изузев везе између тестостерона и Флехмен реакције, односно тестостерона и скокова, биле су статистички значајне ($P<0,05$; $P<0,01$). Резултати плодности били су у слабој корелацији са концентрацијом тестостерона, обимом тестиса и телесном масом овнова. Између резултата плодности оваца и параметара квалитета сперме овнова утврђене су слабе до умерене корелације.

Истраживања у овој докторској дисертацији су урађена у сагласности са планом и програмом који је предложен у Пријави.

На основу свега изнетог, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију кандидата Невене Максимовић, дипл. инж., под насловом "Оцена варијабилности концентрације тестостерона и повезаности са примарним и секундарним полним особинама и понашањем овнова", и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену и омогући кандидату јавну одбрану.

Чланови Комисије:

др Славча Христов, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни
факултет, Београд - Земун

др Цвијан Мекић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни
факултет, Београд - Земун

др Милан П. Петровић, научни саветник
Одељење за генетику и оплећење домаћих
животиња, Институт за сточарство,
Београд-Земун

др Мирослав Жујовић, научни саветник
Одељење за одгајивање и репродукцију
домаћих животиња, Институт за сточарство,
Београд-Земун

др Бранислав Станковић, доцент
Универзитет у Београду - Пољопривредни
факултет, Београд - Земун

Прилог: Petrovic Caro Violeta, Maksimovic Nevena, Petrovic P. M., Petrovic M. M., Ilic Z., Muslic Ruzic Dragana, Mikulec Pesic Dragana (2012): Effect of inbreeding on body growth traits and sperm DNA fragmentation level in rams. *Animal Science Papers and Reports*, 31, 1, p. 27-33.