

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Popović V. Nikola

**UTICAJ GENETSKIH I NEGENETSKIH
FAKTORA NA PROIZVODNJU I KVALITET
SEMENA BIKOVA HOLŠTAJN FRIZIJSKE
RASE U USLOVIMA TOPLOTNOG STRESA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2025

UNIVERSITY OF BELGRAD
FACULTY OF AGRICULTURE

Popović V. Nikola

**THE INFLUENCE OF GENETIC AND NON-
GENETIC FACTORS ON THE PRODUCTION
AND SEMEN QUALITY OF HOLSTEIN
FRIESIAN BULLS UNDER CONDITIONS OF
HEAT STRESS CONDITIONS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2025

UNIVERZITET U BEOGRADU POLJOPRIVREDNI FAKULTET

MENTOR:

dr Radica Đedović, redovni profesor,

(Poljoprivredni fakultet Univerzitet u Beogradu, UNO: Opšte stočarstvo i oplemenjivanje
domaćih i gajenih životinja)

ČLANOVI KOMISIJE:

dr Dragan Stanojević, vanredni profesor,

(Poljoprivredni fakultet Univerzitet u Beogradu, UNO: Opšte stočarstvo i oplemenjivanje
domaćih i gajenih životinja);

dr Milun Petrović, redovni profesor,

(Agronomski fakultet Univerziteta u Kragujevcu, UNO: Stočarstvo);

dr Slobodanka Vakanjac, redovni profesor,

(Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu , UNO: Porodiljstvo, sterilitet i
veštačko osemenjavanje);

dr Radmila Beskorovajni, naučni saradnik,

(Institut za primenu nauke u poljoprivredi, UNO: Genetika i oplemenjivanje domaćih
životinja).

Datum odbrane doktorske disertacije: _____

IZJAVE ZAHVALNOSTI

Najveći uspeh mog profesionalnog i ličnog razvoja jeste ova doktorska disertacija, zato želim da se iskreno zahvalim izuzetnim ljudima koji su mi pomogli na ovom putu. Njihova misija je da svojim znanjem i duhom prosvetuju umove drugima.

Od sveg srca se zahvaljujem mom mentoru, prof. dr Radici Đedović. Od neprocenjive vrednosti bila je njena podrška i saveti u osmišljavanju i koncipiranju doktorske disertacije, realizaciji istraživanja, analizi dobijenih rezultata i pisanju istraživačkog rada. Uz njeno zalaganje, znanje i iskustvo uspeo sam da završim doktorsku disertaciju. Hvala i svim članovima komisije, na podršci, pomoći i savetima tokom izrade doktorske disertacije.

Hvala direktoru Instituta za primenu nauke u poljoprivredi, dr Radetu Jovanoviću, na velikoj podršci, viziji i razumevanju svih ovih godina, koji je neštedeći resurse Instituta ulagao u moje naučno i stručno napredovanje i usavršavanje.

Hvala dragim kolegama, prof. dr Snežani Janković i dr Petru Stojiću, na korisnim savetima, sugestijama i velikoj pomoći i podršci prilikom izrade disertacije. U trenucima kada sam bio na korak da odustanem, oni su verovali u mene i davali mi snagu da nastavim.

Hvala kolektivu Instituta za primenu nauke u poljoprivredi, a posebno kolegama iz grupe za Stočarstvo, koji su me razumeli i pomagali u obavljanju svakodnevnih poslova, kada nisam bio u mogućnost da im se posvetim.

Zahvaljujem se kolegi dr Dragosavu Mutavdžiću sa Instituta za multidisciplinarna istraživanja na dragocenim savetima, pomoći i podršci u oblasti statističke analize i obrade podataka.

Takođe, želim da se zahvalim i Centru za reprodukciju i embrio transfer iz Padinske Skele i njihovom timu, na ustupljenoj opremi i pomoći u sprovođenju eksperimentalnih istraživanja.

Podaci iz Centra za reprodukciju i embrio transfer iz Padinske Skele dobijeni su zahvaljujući projektu "Optimizacija tehnoloških postupaka i zootehničkih resursa na farmama u cilju unapređenja održivosti proizvodnje mleka" čiji je evidencioni broj TP31086, na kome je rukovodilac bio dr Vladan Bogdanović, redovni profesor Univerziteta u Beogradu - Poljoprivredni fakultet.

Moja doktorska disertacija posvećena je onima za koje živim i dišem: Mome dedi, dr Ljubomiru Lazareviću, redovnom profesoru Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu, koji je svojim trudom, znanjem i primerom uticao da krenem pravim putem i stignem do ovog trenutka. Voleo bih da je danas ovde. Mojoj porodici – mojoj dragoj majci, mojoj supruzi i divnoj deci: Mili, Uni i Srni – hvala vam na beskrajnom razumevanju, izdržljivosti i strpljenju u teškim trenucima. Vaša podrška i ljubav bili su moj oslonac na svakom koraku. Ovo je za vas.

Uzdravlje i živeli!

UTICAJ GENETSKIH I NEGENETSKIH FAKTORA NA PROIZVODNJU I KVALITET SEMENA BIKOVA HOLŠTAJN FRIZIJSKE RASE U USLOVIMA TOPLOTNOG STRESA

SAŽETAK

Teorijskim i praktičnim istraživanjima, izvršenim u ovoj disertaciji, razmatranana je genetska i fenotipska varijabilnost kvaliteta native sperme i sperme nakon zamrzavanja, sa posebnim naglaskom uticaja toplotnog stresa u vreme spermatogeneze i u vreme uzimanja sperme. Glavni ciljevi istraživanja bili su da se ispituju fenotipska i genetska varijabilnost proizvodnje i kvaliteta sperme, da se utvrdi i definiše uticaj toplotnog stresa preko toplotno-humidnog indeksa (THI) periodi tokom godine kada je proizvodnja sperme pod izraženim negativnim uticajem toplotnog stresa, i da se dobijeni rezultati upotrebe kao selekcijski kriterijum u odgajivačkim programima za bikove holštajn-frizijske rase.

Istraživanje je sprovedeno na osnovu proizvodnih rezultata 32 holštajn – frizijska bika koji su proizvodili spermu u periodu od 2017. do 2019. godine u Centru za reprodukciju i transfer embriona, Beograd. Bikovi su držani u objektima u pojedinačnim boksevima, a sperma se uzimala 2 puta nedeljno u sali sa stojnicom koja je povezana sa objektima za držanje. Analizirani su sledeći pokazatelji: količina ejakulata (KE), gustina ejakulata (GE), razređenje sperme (RS), pokretljivost spermatozoida native sperme (PSNS), broj zamrznutih doza (BZD), ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja (OSNZ) i pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja (PSNZ). Podaci o temperaturi i vlažnosti vazduha su dobijeni merenjem u objektu u kojem su bikovi bili stacionirani. Senzori su bili smešteni u uređajima za automatsku registraciju mikroklimatskih parametara, tj. u logeru podataka AMTAST, AMT-116. Merenja su vršena na svakih 60 minuta tokom trajanja istraživanja.

Postupkom korak po korak razvijeni su i primenjeni fiksni i mešoviti modeli višefaktorijske analize varijanse optimalni za ovo istraživanje, sa posebnim naglaskom na delovanje toplotnog stresa na početku spermatogeneze i na dan uzimanja sperme. Toplotni stres je definisan toplotno-humidnim indeksom (THI) na sledećim nivoima: bez stresa = $THI \leq 66$, blagi stres = $THI 67-71$, umereni stres = $THI 72-78$, jak stres = $THI 79-81$ i veoma jak stres = $THI \geq 82$.

Pored toplotnog stresa, ispitan je i uticaj godine uzimanja sperme (2017, 2018 i 2019), sezona uzimanja sperme (proleće, leto, jese i zima) i uticaj uzrasta bikova (<24 meseca, 24-26 meseci i >36 meseci).

Prosečne vrednosti i varijabilnost kvaliteta i količine native sperme i sperme nakon zamrzavanja, kada je THI meren na početku spermatogeneze, iznosile su: $5,33 \pm 2,18$ ml ($x \pm SD$) za KE, $1486,14 \pm 669,62 \times 10^6$ /ml za GE, $3,42 \pm 0,83$ za PSNS, $1:19,76 \pm 3,49$ za RS, $3,49 \pm 1,12$ za OSNZ, $0,53 \pm 0,08$ za PSNZ i $482,96 \pm 178,50$ za BZD. Toplotni stres je visokoznačajno uticao ($p < 0,01$) na broj BZD i značajno ($p < 0,05$) na GE, PSNS i RS. Uticaj godine bio je visokog značaja ($p < 0,01$) na KE, RS, OSNZ i BZD. Na KE i RS sezona uzimanja sperme je uticala značajno ($p < 0,05$), a visokoznačajno na BZD ($p < 0,01$). Uzrast bikova bio je visoko značajan na KE, PSNS i BZD ($p < 0,01$), odnosno značajan ($p < 0,05$) na OSNZ. Najstariji bikovi su imali najviše vrednosti za KE, GE, OSNZ, BZD, PSNS i RS.

U slučaju posmatranja ispitivanih uticaja kada je THI meren na dan uzimanja sperme, uticaj godine je bio visoko značajan ($p < 0,01$) na osobine KE, PSNS, RS, OSNZ i BZD i značajan ($p < 0,05$) na GE. Uticaj sezone je bio signifikantan samo na GE ($p < 0,05$), dok je uticaj starosti bika bio visokoznačajan ($p < 0,01$) na KE, PSNS i BZD i zanačajan ($p < 0,05$) na GE, PSNZ i OSNZ. Najmanja KE $4,18 \pm 1,95$ ml i najmanja GE $1189,19 \pm 668,23 \times 10^6/\text{ml}$ su ostvareni u uslovima veoma jakog stresa ($p < 0,01$). Osim za RS, najmanje vrednosti svih ostalih ispitivanih parametara bili su najniži u uslovima veoma jakog stresa, pri čemu uticaj stresa nije bio značajan ($p > 0,05$).

Kada je u pitanju uticaj bika na osobine kvaliteta i količine nativne sperme i sperme nakon zamrzavanja, u uslovima kada je THI meren na početku spermatogeneze, uticaj bika je bio visokoznačajan ($p < 0,01$) na ispoljavanje svih pokazatelja (KE, GE, PSNS, RS, OSNZ, PSNZ i BZD). Takođe, fiksni uticaj bika pokazao je visoko značajan uticaj ($p < 0,01$) na sve osobine nativne sperme (KE, GE, PSNS, RS) i sperme nakon zamrzavanja (SNZ, PSNZ i BZD), kada je THI meren na dan uzimanja sperme.

Repitabilitet ispitivanih pokazatelja bio je uglavnom nizak: $0,038 \pm 0,016$ (R $\pm$ SR) za GE; $0,157 \pm 0,016$ za PSNS; $0,038 \pm 0,034$ za RS; $0,226 \pm 0,043$ za OSNZ i $0,167 \pm 0,43$ za PSNZ, dok je za KE ($0,431 \pm 0,015$) i BZD ($0,368 \pm 0,035$) bio srednje do visok.

Fenotipske korelacije osobina količine i kvaliteta sperme bikova, kada je THI meren na početku spermatogeneze u ovom istraživanju su pokazale da je: KE je bila u pozitivnoj korelaciji sa BZD, na nivou značajnosti ($p < 0,01$), kao i PSNS i OSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,05$), dok je KE bila u negativnoj korelaciji sa RS na nivou značajnosti ($p < 0,05$). GE je bila u pozitivnoj korelaciji sa PSNS, BZD i RS na nivou značajnosti ($p < 0,01$). BZD je bio u pozitivnoj korelaciji sa OSNZ i RS na nivou značajnosti ($p < 0,01$), PSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,05$). OSNZ je bila u pozitivnoj korelaciji sa PSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,01$).

Fenotipske korelacije osobina količine i kvaliteta sperme bikova, kada je THI meren na dan uzimanja sperme u ovom istraživanju su pokazale da je: KE je bila u pozitivnoj korelaciji sa GE, PSNS, BZD i OSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,01$), PSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,05$). Dok je KE bila u negativnoj korelaciji sa RS na nivou značajnosti ($p < 0,05$). GE je bila u pozitivnoj korelaciji sa PSNS, BZD i RS na nivou značajnosti ($p < 0,01$). BZD je bio u pozitivnoj korelaciji sa OSNZ, PSNZ i RS na nivou značajnosti ($p < 0,01$). OSNZ je bila u pozitivnoj korelaciji sa PSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,01$).

Ključne reči: bikovi, toplotni stres, THI, proizvodnja sperme, spermatogeneza

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Opšte stočarstvo i oplemenjivanje domaćih i gajenih životinja

UDK broj:

THE INFLUENCE OF GENETIC AND NON-GENETIC FACTORS ON THE PRODUCTION AND SEMEN QUALITY OF HOLSTEIN BULLS OF THE FRIESIAN BREED UNDER HEAT STRESS CONDITIONS

SUMMARY

Theoretical and practical research, carried out in this dissertation, considered the genetic and phenotypic variability of the quality of native sperm and sperm after thawing, with special emphasis on the influence of heat stress during spermatogenesis and at the time of semen collection. The main objectives of the research were to examine the phenotypic and genetic variability of sperm production and quality, to determine and define the influence of heat stress through the thermal humid index (THI), and the periods during the year when sperm production is under the pronounced negative influence of heat stress, as well as to use the obtained results as a selection criterion in breeding programs for bulls of the Holstein - Friesian breed.

The research was conducted on the semen of 32 Holstein-Friesian bulls in the period 2017–2019 at the Reproduction and Embryo Transfer Centre in Belgrade. The bulls were housed in facilities with separate pens, and the semen was collected two times a week in hall where an artificial vagina was connected to housing facilities. The following parameters were investigated: ejaculate quantity (KE), ejaculate density (GE), semen thinning (RS), native spermatozoa motility (PSNS), number of frozen doses (BZD), quality evaluation of deep-frozen semen (OSNZ) and spermatozoa motility in deep-frozen semen (PSNZ). The data on temperatures and air humidity were gathered in the housing facility. There were sensors mounted onto devices for automatic recording of microclimatic parameters, i.e. data logger AMTAST, AMT-116. The recording was carried out every 60 minutes during the research.

Gradually, step-by-step, some optimal fixed and mixed-effects models of multi-factorial variance were developed and applied, with special focus on the effect of heat stress at the beginning of spermatogenesis and on the day of semen collection. Heat stress was expressed as temperature-humidity index (THI), defined as follows: no stress = $THI \leq 66$, mild stress = $THI 67-71$, moderate stress = $THI 72-78$, strong stress = $THI 79-81$ and very strong stress = $THI \geq 82$.

Apart from heat stress, the research also comprised the effect of the year of semen collection (2017, 2018 and 2019), the effect of the season (spring, summer, autumn, winter) and the effect of the age of the bulls (<24 months, 24–26 months and >36 months).

The average values and variability of quality and quantity of the native semen and the deep-frozen semen when THI was measured at the beginning of spermatogenesis were, as follows: 5.33 ± 2.18 ml ($x \pm SD$) for KE, $1486.14 \pm 669.62 \times 10^6$ /ml for GE, 3.42 ± 0.83 for PSNS, $1:19.76 \pm 3.49$ for RS, 3.49 ± 1.12 for OSNZ, 0.53 ± 0.08 for PSNZ and 482.96 ± 178.50 for BZD. Heat stress had a highly significant effect ($p < 0.01$) on the number of BZD and a significant effect ($p < 0.05$) on GE, PSNS and RS. The effect of the year was highly significant ($p < 0.01$) for KE, RS, OSNZ and BZD. The season had a significant ($p < 0.05$) effect on KE and RS, and a highly significant on BZD ($p < 0.01$). The age of the bulls had a highly significant effect on KE, PSNS and BZD ($p < 0.01$) and significant ($p < 0.05$) on OSNZ. The oldest bulls exhibited the highest values of KE, GE, OSNZ, BZD, PSNS and RS.

In case when THI was measured on the day when the semen was collected, the effect of the year was highly significant ($p < 0.01$) on KE, PSNS, RS, OSNZ and BZD, and significant ($p < 0.05$) on GE. The season had a significant effect only on GE ($p < 0.05$), whereas the age of the bulls had a highly significant effect ($p < 0.01$) on KE, PSNS and BZD and a significant effect ($p < 0.05$) on GE, PSNZ and OSNZ. The lowest KE (4.18 ± 1.95 ml) and the lowest GE ($1189.19 \pm 668.23 \times 10^6/\text{ml}$) were obtained under very strong stress conditions ($P < 0.01$). Except for RS, the lowest values of all other parameters in question were recorded under very strong stress conditions, yet the effect of stress was not significant ($p > 0.05$).

When it comes to the influence of the bull on the indicators of the quality and quantity of native sperm and sperm after freezing, in conditions where THI was measured at the beginning of spermatogenesis, the influence of the bull was highly significant ($p < 0.01$) on the manifestation of all indicators (KE, GE, PSNS, RS, OSNZ, PSNZ and BZD). Also, the fixed effect of the bull showed a highly significant effect ($p < 0.01$) on all traits of native sperm (KE, GE, PSNS, RS) and sperm after freezing (SNZ, PSNZ and BZD), when THI was measured on the day of semen collection.

The repeatability of the parameters in question was mostly low: 0.038 ± 0.016 ($R \pm SR$) for GE, 0.157 ± 0.016 for PSNS, 0.038 ± 0.034 for RS, 0.226 ± 0.043 for OSNZ and 0.167 ± 0.043 for PSNZ, and moderate high for KE (0.431 ± 0.015) and BZD (0.368 ± 0.035).

Phenotypic correlations of the quantity and quality of bull sperm, when THI was measured at the beginning of spermatogenesis in this research, showed: KE was positively correlated with BZD (at 0.01 level of significance), PSNS and OSNZ (at 0.05 level of significance). However, KE was negatively correlated with RS (at 0.05 level of significance). GE was positively correlated with PSNS, BZD and RS (at 0.01 level of significance). BZD was positively correlated with OSNZ and RS at 0.01 level of significance and PSNZ at 0.05 level of significance. OSNZ was positively correlated with PSNZ at 0.01 level of significance.

Phenotypic correlations of the quantity and quality of bull sperm, when THI was measured on the day of semen collection in this research, showed: KE was positively correlated with GE, PSNS, BZD and OSNZ (at 0.01 level of significance), and PSNS (at 0.05 level of significance). However, KE was negatively correlated with RS (at 0.05 level of significance). GE was positively correlated with PSNS, BZD and RS (at 0.01 level of significance). BZD was positively correlated with OSNZ, PSNZ and RS at 0.01 level of significance. OSNZ was positively correlated with PSNZ at 0.01 level of significance.

Key words: bulls, heat stress, THI, semen production, spermatogenesis

Scientific field: Biotechnical Sciences

Narrow scientific field: General Animal Husbandry and Breeding of Domestic and Farmed Animals

UDC number:

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2. 1. Značaj toplotnog stresa i toplotnog humidnog indeksa (THI).....	3
2. 2 Reproductivni trakt bikova.....	5
2. 3. Biološke karakteristike sperme.....	6
2. 4. Optimalni klimatski uslovi za gajenje goveda.....	7
2. 5. Negativan efekat mikroklimatskih uslova na mlečna goveda	9
2. 6. Negativan efekat mikroklimatskih uslova na reprodukciju goveda.....	10
2. 7. Negativan efekat mikroklimatskih uslova na spermatogenezu	11
2. 8. Negativan efekat mikroklimatskih uslova na kvalitet i kvantitet sperme bikova.....	12
2. 9. Uticaj bikova - očeva na kvalitet i kvantitet sperme.....	14
2. 10. Uticaj starosti na kvalitet sperme bikova	15
2. 11. Ponovljivost pokazatelja kvaliteta i količine nativnog i sperme nakon zamrzavanja.....	15
2. 12. Korelacije između osobina količine i kvaliteta sperme bikova	17
2. 13. Naučni ciljevi israživanja	18
3. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA.....	20
3. 1. Materijal i ispitivane osobine	20
3. 2. Primenjeni matematičko-statistički modeli	22
4. REZULTATI I DISKUSIJA.....	29
4. 1. Prosečne vrednosti i varijabilnost temperature, relativne vlažnosti vazduha i THI (<i>toplotno humidni indeks</i>)	29
4. 2. 1. Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na početku spermatogeneze.	35
4. 2. 2. Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta semena posle zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na početku spermatogeneze	45
4. 2. 3. Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na dan uzimanja sperme	51
4. 2. 4. Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta semena posle zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na dan uzimanja sperme	58
4. 3. Genetska varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme.....	63
4. 3. 1. Uticaj bika na pokazatelje količine i kvaliteta sperme.....	63
4. 3. 2. Repitabilitet (ponovljivost) pokazatelja količine i kvaliteta sperme.....	70
4. 3. 3. Fenotipske korelacije osobina količine i kvaliteta sperme bikova.....	72

5. ZAKLJUČAK.....	76
6. LITERATURA	80
7. PRILOZI.....	92
8. BIOGRAFIJA AUTORA	117
Izjava o korišćenju	121

1. UVOD

Porast svetske populacije učinio je da se potreba za hranom povećava iz godine u godinu. Ovo se posebno odnosi na proizvodnju mleka, gde se potrebe povećavaju prvenstveno zbog rast broja stanovnika u Aziji i sve većoj upotrebi ove namirnice u ishrani stanovništva ovog kontinenta. S druge strane, resursi za ovaj vid proizvodnje su ograničeni, briga potrošača o uticaju ove proizvodnje na životnu sredinu, zdravlje i dobrobit životinja je sve veća što dodatno usložnjava održivo upravljanje ovim vidom stočarske proizvodnje. Efikasna proizvodnja velikih količina kvalitetnih animalnih proizvoda podrazumeva dobro poznavanje i primenu savremenih naučnih saznanja i praktičnih iskustva iz brojnih naučnih disciplina, posebno iz oblasti biotehnoloških, veterinarsko-medicinskih i ekonomskih nauka (Stančić, 2014).

Oplemenjivanje i reprodukcija domaćih životinja su veoma značajne naučne discipline u oblasti stočarstva i veterinarske medicine. Naime, nivo proizvodnje mesa, mleka, jaja i drugih animalnih proizvoda, direktno zavisi od reproduktivne efikasnosti životinja, posebno u tehnologiji intenzivne proizvodnje. S tim u vezi, izučavanje fiziologije reprodukcije domaćih životinja, kao i primena naučnih saznanja i praktična iskustva iz ove oblasti, ima odlučujući uticaj na uspešnost oplodnje. Moderna tehnologija reprodukcije, naročito u intenzivnoj proizvodnji, zahteva primenu različitih biotehnoloških metoda za kontrolu i stimulaciju reproduktivnih funkcija, kako bi se ostvarila maksimalna fenotipska ispoljenost genetskih predispozicija za osobine od interesa proizvođača (Stančić, 2014.).

Osobine plodnosti ženki goveda u mnogim zemljama su široko proučavana u svrhu uzgoja, dok je manje pažnje posvećeno plodnosti muških jedinki. Kod goveda plodnost muških jedinki se može meriti direktno na spermi ili indirektno preko ženki. Profitabilnost proizvodnje mleka i mesa u velikoj meri zavisi od reproduktivnih osobina goveda. Osobine plodnosti su nisko nasledne i njihova varijabilnost je pre svega uslovljena različitim paragenetskim uticajima. Zbog toga je unapređenje ovih osobina složen proces koji zahteva kontinuirani odgajivačko-seleksijski rad. U neselekcionisanim populacijama životinja nije moguće ostvariti napredak, jer se u takvim populacijama ne sprovodi ciljana selekcija ili se ne koriste odgovarajuće metode koje bi trebalo primeniti radi njihovog poboljšanja. Zato je neophodno sistematsko praćenje najvažnijih proizvodnih i reproduktivnih osobina goveda.

U savremenoj govedarskoj proizvodnji, tehnologija veštačkog osemenjavanja je u potpunosti potisnula prirodni pripust. Uspeh u primeni tehnologije veštačkog osemenjavanja zavisi od identifikacije i selekcije bikova čije su reproduktivne performanse i kvalitet sperme iznad proseka. Zato je neophodno poznavanje i kontrola kvantitativnih i kvalitativnih osobina sperme bikova. Sperma bikova ima veliki ekonomski značaj za odgajivače goveda. Veštačko osemenjavanje omogućava gajenje manjeg broja visokovrednih priplodnjaka uz njihovo optimalno korišćenje u reprodukciji. Činjenica je da je broj potomaka po biku mnogo veći u odnosu na broj potomaka po kravi i zato je neophodno posebnu pažnju usmeriti na odabir kvalitetnih bikova za narednu generaciju potomaka.

Postoje faktori koji određuju uspeh veštačkog osemenjavanja (VO) kao što su sezonske varijacije životne sredine i temperature (McDowell, 1972). U oblastima sa izraženim sezonskim varijacijama u temperaturi dolazi do promene u morfološkim i fiziološkim karakteristikama sperme (Mathevon i sar., 1998. i Brito i sar., 2002).

Poznavanje morfologije (građe) i fiziologije (funkcije) reproduktivnih organa je osnovni preduslov za razumevanje pojedinih reproduktivnih procesa muških i ženskih životinja. Njihovo poznavanje je neophodno i za pravilno definisanje tehnologije upravljanja reproduktivnim procesima, posebno u intenzivnim uslovima savremene stočarske proizvodnje (Žikić i sar., 2016).

Rasa, genotip, individualne osobine i starost bika mnogi autori navode kao važne faktore koji utiču na kvalitet sperme bikova (Hofirek i sar., 2009; Beran i sar., 2011; Beran i sar., 2012. i Stadnik i sar., 2015), dok klima, sezona i posebno ambijentalna temperatura, relativna vlažnost i dnevno svetlo spadaju u najvažnije spoljašnje faktore (Hofirek i sar., 2009; Stadnik i sar., 2014. i Alragubi, 2015).

Životinje se protiv toplotnog stresa bore povećanjem frekvencije disanja, znojenjem, smanjenim konzumiranjem hrane i povećanim konzumiranjem vode, što dovodi i do promena u metabolizmu i otežanom funcionisanju endokrinog sistema (Morrell, 2020; Herbut i Angrecka, 2018; Prathap i sar., 2017. i Kučević i sar., 2013).

Mere poput fizioloških, bihevioralnih i bioloških odgovora na toplotno opterećenje, identifikovani su kao pokazatelji toplotnog opterećenja. Fiziološki odgovori na toplotno opterećenje uključuju povećanu brzinu znojenja (Mader i sar., 2010.), brzinu disanja, broj udisaja u minutu (Gaughan, 2002), skokove u disanju i telesnu temperaturu (Mader i sar., 2006).

Uticaj toplotnog stresa je posebno važan zbog globalnog zagrevanja i uticaja na životnu okolinu. Međutim, istovremeno treba razumeti da su pojedinačne reakcije životinja na njihovo termalno okruženje izuzetno različite, ali da sveukupno negativno utiču na zdravlje, produktivnost i dobrobit stoke. Nezavisno od uticaja klimatskih promena na proizvodnju domaćih životinja, stočarsku proizvodnju treba značajno unaprediti kako bi se zadovoljila potražnja potrošača.

Posebna pažnja prilikom izrade ove disertacije posvećena je proceni uticaja THI (toplotno humidni indeks) na kvalitet sperme, kao i uticaju ostalih sistematskih faktora na varijabilnost količine i kvaliteta sperme pre i nakon zamrzavanja (godina, sezona, uzrast grla, genotip i ostalo) primenom optimalnijeg matematičko-statističkog modela ustanovljenog metodom korak po korak.

Primarni ciljevi doktorske disertacije su utvrđivanje uticaja bikova-očeva i njihove starosti, temperature vazduha i vlažnosti vazduha (eng. Temperature-Humidity Index, THI), sezone i godine na morfološke karakteristike sperme kod bikova holštajn-frizijske rase u Srbiji.

2. PREGLED LITERATURE

2. 1. Značaj toplotnog stresa i toplotnog humidnog indeksa (THI)

U protekle dve decenije u svetu je sprovedeno više istraživanja na temu uticaja toplotnog stresa i THI na proizvodne i reproduktivne osobine goveda, kao i na kvantitet i kvalitet sperme bikova.

Toplotni stres je definisan kao zbir spoljnih uticaja koje deluju na životinju i koje uzrokuju porast telesne temperature i izazivaju mnoge fiziološke odgovore (Dikmen i Hansen, 2009). Uticaj temperature ambijenata se procenjuje uporednim merenjem temperature vazduha i vlažnosti vazduha (eng. Temperature-Humidity Index, THI). Tokom godina, formula za izračunavanje THI je mnogo puta modifikovana i ispravljena od strane raznih autora (Steadman, 1979; Ravagnolo i Misztal, 2000 i Mader i sar., 2006). Danas je uglavnom prihvaćeno da se indeks temperaturne vlage (THI) izračunava se na sledeći način: $THI = (1,8T + 32) - ((0,55 - 0,0055RH) \times (T - 26,8))$ (Dunn i sar., 2014) gde je: T = temperatura vazduha (°C) izmerena u stajama za držanje životinja, RH = relativna vlažnost vazduha (%) izmerena u stajama za držanje životinja.

Segnalini i sar. (2013). su klasifikovali vrednosti THI prema sledećoj podeli: THI <68 - bez rizika, $68 \leq THI < 72$ - blaga nelagodnost, $72 \leq THI < 75$ - neprijatnost, $75 \leq THI < 79$ - uzbuna, $79 \leq THI < 84$ - opasnost i $THI \geq 84$ - vanredna situacija. Huhnke i sar. (2001). su podelili THI u 2 kategorije: $79 \leq THI \leq 83$ opasna situacija, i $THI \geq 84$ vanredna situacija.

Većina studija autora ukazuju na THI = 72 kao kritičnu vrednost, prag, iznad koje proizvodna svojstva krava počinju da se menjaju i primećuje se pad produktivnosti (Ravagnolo i Misztal, 2000; Bohmanova i sar., 2007; Brouček i sar., 2009; Thatcher i sar., 2010. i Akyuz i sar., 2010). Smith i sar. (2013) navode da kada je THI veći od 72, krave holštajn frizijske rase imaju smanjenje proizvodnje mleka sa 35,6 na 34,2 kg / dan (- 3,9%). Novije studije takođe ukazuju da THI od 68 kao donju granicu za pojavu toplotnog stresa (Segnalini i sar. 2011; Carter i sar., 2011 i Carabano i sar., 2014). U rasponu THI od 78 do 82 proizvodne i reproduktivne osobine su ozbiljno narušene, dok u opsegu THI od 82 i više, smrt krava se lako može dogoditi i hlađenje životinja je tada apsolutno neophodno (Brouček i sar., 2007). Granična vrednost THI zavisi od mnogih činilaca, na primer, faze laktacije, teljenja po redu, nivoa proizvodnje mleka, rase, regiona, individualne osetljivosti na toplotni stres itd. (Kadzere i sar., 2002; Collier i sar., 2006; Hansen, 2013 i Gantner i sar., 2017). Neophodno je sprečiti povećanje telesne toplote kako bi se sprečilo da životinja uđe u stadijum hipertermije koja bi mogla imati fatalne rezultate. Zbog toga je održavanje optimalne temperature za krave presudan uslov za njihovu visoku produktivnost i opšte zdravlje.

Bernabucci i sar. (2014) smatraju da je prag stresa pri vrednostima THI od 68, Du Preez i sar. (1990) na 72, dok Bohmanova i sar. (2007), zavisno od regiona na 72 u Gruziji i 74 u Arizoni. Lambertz i sar. (2014) istakli su da bi razlika u definisanju graničnih vrednostima mogla biti posledica boljeg prilagođavanja nekih krava, razlikama u gazdinstvima ili smeštaju krava.

Granična vrednosti THI od 72, odgovara temperaturi vazduha od 22 °C i relativnoj vlažnosti vazduha od 100%, temperaturi od 25 °C i relativnoj vlažnosti vazduha od 50% ili temperaturi vazduha od 28 °C i relativnoj vlažnosti od 20% (Gantner i sar., 2011).

Rezultati koje su ustanovili Cincović i sar. (2010) pokazuju da je toplotni stres, koji se ogleda u visokoj vrednosti THI >72, prisutan i tokom kasnog proleća, leta i rane jeseni. Gantner i sar. (2011) su istakli da je čak i u periodima sa nižim temperaturama, a visokom relativnom vlagom, može doći do stanja toplotnog stresa. Krave izložene toplotnom stresu, u istraživanju Belića i sar. (2011) pokazale su tipične procese aklimatizacije, izražene u povišenoj rektalnoj temperaturi, ubrzanom disanju i smanjenom unosu hrane. Dunn i sar. (2014) su ukazali da toplotni stres može biti ozbiljan problem tokom leta, posebno pri uzgoju krava u vezanom sistemu, kao i na paši. Primena temperaturne regulacije sa različitim sistemima hlađenja korisna je za životinje i proizvodnju, iako povećava troškove proizvodnje.

Proizvodnja toplote ima pozitivan odnos sa unosom hrane kod preživara, pokazalo se i da je proizvodnja toplotne energije usko povezana s vremenom hranjenja (Brown i sar., 2003). Proizvedena metabolička toplota tokom mikrobne fermentacije čini od 3 do 8% ukupne proizvedene toplote kod goveda (Beatty i sar., 2008). Kako se opterećenje okruženja povećava, a unos suve materije smanjuje, dolazi do smanjenja metaboličke proizvedene toplote (Brown i sar., 2003). U vreme visokih ambijentalnih temperatura stoka konzumira manje obroke, što se može delimično nadomestiti podelom obroka u hladnije delove dana (Brown i sar., 2005). Dobrovoljni unos hrane počinje da opada kada temperatura okoline dostigne približno 25 °C do 27 °C (Beede i Collier, 1986). Kada goveda počnu da akumuliraju telesnu toplotu, telesna temperatura raste, dolazi do preraspodele protoka krvi iz unutrašnjih organa do ekstremiteta, samim tim smanjuje se dotok krvi do gastrointestinalnog trakta (Baumgard i Rhoads, 2012a).

Postoje brojne metode za smanjenje efekta toplotnog stresa kod mlečnih goveda, i dele se na: kratkoročne i dugoročne metode. Kratkoročne metode uključuju optimizaciju obroka i primenu različitih sistema za hlađenje u objektima, dok dugoročne metode znače selekciju mlečnih goveda na otpornost prema toplotnom stresu. Uzimajući u obzir klimatske promene, neophodna je adekvatna strategija prilagođavanja kako bi se smanjili negativni efekti klimatskih promena na domaće životinje (Segnalini i sar., 2013).

Termin "toplotni stres" se po definiciji donekle pogrešno odnosi na kombinaciju uslova životne sredine bez uzimanja u obzir individualnih osobina životinja. Međutim faktori kao što su genotip, tip dlake i boja dlake, stanje tela, proizvodnja, zdravstveno stanje i ishrana grla takođe utiče na toplotnu ravnotežu (Lees i sar., 2019). Stoga se u nekim istraživanjima pominje termin toplotno opterećenje. Termin toplotno opterećenje uključuje kumulativne efekte životne sredine kao i individualne efekte životinje na toplotni komfor životinja (Gaughan, 2002).

Voda je dostupna životinjama u tri oblika, vodi za piće, vodi u hrani i vodi proizvedenoj oksidacijom organskih jedinjenja ili metaboličkoj vodi. Potrebe za vodom goveda zavise od uticaja ambijentalnih uslova, ishrane, rase (genotip), telesne mase i fizioloških funkcija (Arias i Mader, 2011). Isti autori navode da goveda tokom leta popiju 87,3% više vode u odnosu na zimski period. Na dnevni unos vode takođe utiču brojne telesne funkcije, uključujući regulisanje telesne temperature, rast i razvoj, laktacija, reproduktivne funkcije, varenje i metabolizam i hidroliza proteina, masti i ugljenih hidrata. Takođe, vrsta hrane utiče na unos vode.

Na farmama vreme ležanja može se koristiti kao merilo dobrobiti krava (Vasseur i sar., 2012). Ovo je posebno važno u slučaju toplotnog stresa, koji smanjuje vreme ležanja (Anderson i sar., 2013). To je potvrđeno i u istraživanjima koje je sproveo Cook i sar. (2007) u kojoj s povećanjem THI-a vreme ležanja se skraćuje za 3 sata.

2. 2 Reproktivni trakt bikova

Mejotička deoba je način formiranja haploidnih polnih ćelija (gameta). Mejoza se dešava u polnim žlezdama (gonadama). Muška polna žlezda je testis (semenik), a ženska ovarijum (jajnik). U njima se vrši gametogeneza (nastanak polnih ćelija) od diploidnih primarnih polnih ćelija (Primordial Germ Cells, PGCs). Od njih nastaju spermatogonije, odnosno oogonije. Takođe od njih nastaju spermatocite, odnosno oocite, koje mejotičkom deobom daju kod muškog pola četiri spermatide, a kod ženskog pola jajnu ćeliju (oocitu) prvo i drugo polarno telo. Od spermatida sazrevanjem nastaju spermatozoidi (spermiji) (Smiljaković i sar., 2007).

Kod muških individua formiranje gameta počinje sa polnom zrelošću. S druge strane, kod ženki sisara mejoza počinje za vreme embrionalnog razvića jedinke, a završava se nakon oplodnje (Muller i Hassel, 2003). Polna zrelost kod muških jedinki se dostiže kada se formiraju spermatozoidi sposobni za oplodnju, prisutan libido i polna sposobnost.

Seksualno ili polno razmnožavanje zavisi od prethodno formiranog gameta i od čina oplodnje. Oplodnja (fertilizacija) je čin u kome se spajaju muški i ženski gameti i daju zigot. Tok oplodnje podrazumeva međudejstvo između spermatozoida i jajne ćelije. Nakon oplodnje decondenzuje se glava spermatozoida i daje muško jedro. Istovremeno se završava druga mejotička deoba i nastaje žensko jedro. U zigotu se nalaze muško i žensko jedro, i taj stadijum se naziva predjedarni stadijum. Embrioni koji 48 sati nakon oplodnje još nisu dostigli dvojedarni stadijum, po pravilu, se ne razvijaju u blastociste. Najbolje sazrevaju embrioni koji su nakon 48h nalaze na nivou četiri ćelije. (Smiljaković i sar., 2007).

Ovulirana jajna ćelija odlazi u jajovod i tu se uglavnom odigrava oplodnja. Spermatozoidi se utrkuju do jajovoda. U sekretu materice postaju sposobni za oplodnje i to se naziva kapacitacija spermatozoida. Muški i ženski gameti su u ženskom reproduktivnom traktu samo u određenom vremenskom periodu spremni za oplodnju, jajna ćelija je spremna za oplodnju 8-12 sati, a spermatozoidi do 48 sati. Steroidni hormoni određuju put gameta i oplodene jajne ćelije-zigota. Trepljice u jajovodu, mukoza jajovoda i jajovodna tečnost omogućavaju kretanje gameta i zigota. Pod dejstvom estrogena javlja se navala tečnosti u smeru jajnika, a pod dejstvom progesterona tečnost se kreće u smeru materice-uterusa (Smiljaković i sar., 2007).

Nakon prodiranja spermatozoida u jajnu ćeliju, prva deoba, obično, kod sisara počinje tokom prvih 24 sata. Zatim slede deobe koje se dešavaju u okviru veličine jajne ćelije i nastaje morula. Pri sledećim deobama stvara se šupljina u centralnom delu morule i to je blastocel, a stadijum koji tako nastaje je blastula (blastocist). Mesto krupnijih ćelija naziva se trofoblast, a na suprotnom polu su manje, kompaktne ćelije. One obrazuju unutrašnju ćelijsku masu (ICM, inner cell mass). Iz ICM se razvija embrion, a iz trofoblasta opna embriona. Trofoblast gradi jedan zatvoreni zid, koji je značajan za aktivan transport u i iz blastocela, i služi za kontakt sa majčinskim tkivom. Kod većine životinja je do nivoa blastule ta embrionalna optika okružena sa Zonn-om pellucid-om. Konačno na nivou blastule puca zona pellucida i blastocist se ugnjezđuje u unutrašnji zid materice (nidacija, implantacija). Metazoe (višećelijski organizmi) prolaze kroz svoju ontogenezu uz specifične procese, koji se delimično mogu opisati kao razmnožavanje. Kod sisara se razvoj embriona dešava unutar materice. Ukoliko iz dva zigota nastanu blizanci, oni se nazivaju dizigotni blizanci. Ako su se nakon stvaranja zigota, odvojile dve ćelije, tada nastaju monozigotni blizanci što je ređi slučaj (Smiljaković i sar., 2007).

2. 3. Biološke karakteristike sperme

Osnovne fiziološke i morfološke karakteristike, na osnovu kojih se vrši ocena fertilizacione sposobnosti sperme su: izgled, volumen ejakulata, pokretljivost i broj živih spermatozoida, koncentracija spermatozoida u ejakulatu, kao i nekih biohemiskih odlika sperme (Hafez, 1974).

Izgled ejakulata se ocenjuje na osnovu njegove boje, prisustva prljavštine, dlaka, krvi, gnoja i slično. Ejakulat bika je mlečno bele ili boje slonovače, ređe žuckaste boje (Miljković 1990). Volumen ejakulata zavisi od starosti životinje, telesne mase, rase, uslova držanja, individualnog polnog režima priplodnjaka, kao i od frekvencije uzimanja sperme. Stariji bikovi daju veću količinu sperme od mlađih (Miljković, 1990). Količina ejakulata kreće se od 1,5 do 15 ml, odnosno u proseku oko 6 ml (Hafez, 1974 i Kumar i sar., 2006). Jakovljević (2004) ustanovio je prosečne vrednosti za volumen ejakulata u Centru za reprodukciju i embriotehnologiju PKB, na grlima holštajn-frizijske rase od 3,32 ml, do 4,21 ml. Volumen drugog ejakulata je uvek manji od volumena prvog ejakulata, ako se uzima neposredno jedan za drugim (Stanišić, 1994). Koncentracija spermatozoida ili gustina sperme (broj spermatozoida u ml sperme) iznosi oko $1,2 \times 10^9/\text{ml}$ (Hafez, 1974), a može imati vrednosti od $0,7 \times 10^9/\text{ml}$ do $1,4 \times 10^9/\text{ml}$ (Kumar i sar., 2006). Koncentracija spermatozoida u istraživanju Vakanjac i sar. (2013) duboko zamrznutog semena bika kod 83 uzoraka kretala se u intervalu od $10,5 \times 10^6/\text{ml}$ do $35 \times 10^6/\text{ml}$. Jakovljević (2004) je ustanovio vrednosti koncentracije spermatozoida u spermi bikova holštajn – frizijske rase od prosečno $1,86 \times 10^9/\text{ml}$ do $2,11 \times 10^9/\text{ml}$. Na osnovu koncentracije spermatozoida određuje se stepen razređivanja ejakulata, odnosno broj proizvedenih doza.

Pokretljivost spermatozoida je osnovni kriterijum za ocenjivanje kvaliteta i upotrebljivost sperme za veštačko osemenjavanje. Postoje nekoliko tipova kretanja spermatozoida, to su: progresivno, cirkularno (kružno) i u mestu (lebdjenje). Za ocenu stepena oplodne sposobnosti sperme uzima se broj, odnosno procenat progresivno pokretljivih spermatozoida. Tako se sperma u kojoj je progresivna pokretljivost spermatozoida ocenjena sa 80% - 100% smatra vrlo dobrom i ima numeričku vrednost 5. Prosečne vrednosti za masovnu pokretljivost spermatozoida merenu na skali od 1-5, kao u našem istraživanju, od 3,73 do 4,18 ustanovio je Jakovljević (2004). Ejakulati koji se koriste za duboko zamrzavanje ne bi trebalo da imaju manje od 60% progresivno pokretljivih spermatozoida (Miljković, 1990). Kumar i sar. (2006) navode da se procenat progresivno pokretljivih spermatozoida kod bikova nastalih ukrštanjem *Bos indicus* i *Bos taurus* govečeta kretao od 72,58 do 88,04%. Vakanjac i sar. (2013) navodi da se progresivna pokretljivost nakon zamrzavanja u 76% uzoraka kretala se u intervalu od 55% do 60%. Isti autori navode da je granica prihvatljivosti sperme za VO kada je progresivna pokretljivost nakon zamrzavanja 50%.

Milovanović i sar. (2015) su analizom duboko zamrznutog semena CASA metodom (engl. Computer Assisted Sperm Analyses) nakon otapanja pajeta ustanovili da su doze “van klase” ukoliko imaju manje od 30% pokretljivih i manje od 20% progresivno pokretljivih spermatozoida i takva sperma je odbacivana kao neupotrebljiva. Kaka i sar. (2015) CASA analizama utvrdili su da je pokretljivost spermatozoida bikova simentalke rase posle otapanja iznosila 38%. Istom metodom Sariozkan i sar. (2010) utvrdili su da je pokretljivost spermatozoida simentalčkih bikova iznosila 43,6%. Različitost u vrednostima pojedinih parametara kvaliteta semena nakon otapanja zapažena je i kod holštajn frizijske rase goveda. Shojaei i sar. (2012) navode da je pokretljivost spermatozoida bila 52,6 %, Contri i sar. (2010) su kod bikova holštajn rase registrovali progresivnu pokretljivost spermatozoida od 75,6 %, Hu i sar. (2009) navode vrednosti parametara za kvalitet semena bikova holštajn rase koje se razlikuju od predhodno navedenih, pokretljivost

spermatozoida je iznosila 46,86%. Jakovljević. (2016) navodi prosečne rezultate procenta ukupno pokretljivih spermatozoida u dozi od 42,95 % do 54,14 %.

Minimalni uslovi koje sveža sperma kod bikova mora da ispuni po “Pravilniku o načinu obeležavanja sperme, načinu vođenja evidencije o proizvodnji sperme, kao i o uslovima koje mora da ispunjava sperma u pogledu kvaliteta” koji je kod nas u primeni (sl. Glasnik RS 38/14) su sledeći: zapremina 2 mL, progresivna pokretljivost minimalno 65%, najmanje 500 x 10⁶ spermatozoida u mL, pH od 6,5 do 7. Sperma bikova nakon zamrzavanja treba da ispunjava sledeće minimalne uslove: progresivna pokretljivost spermatozoida najmanje 50%, procenat morfološki promenjenih spermatozoida do 30%, progresivna pokretljivost nakon testa otpornosti minimum 40%.

2. 4. Optimalni klimatski uslovi za gajenje goveda

Svedoci smo nepobitnih promena u klimi koje se dešavaju poslednjih nekoliko godina. Procena je da će doći do značajnih promena klime, pre svega, temperature vazduha u narednih nekoliko decenija, kao i količina i rasporeda padavina. Ove promene će afektirati sav živi svet na našoj planeti, pa tako i stočarsku proizvodnju, uključujući i proizvodnju sperme bikova. Neke rase, koje potiču od Bos Indicus govečeta, lakše podnose temperaturni stres, za razliku od rasa koje potiču od Bos Taurus-a. Temperaturni stres nije samo uticaj temperature i vlažnosti vazduha, već i uticaj sunčevog zračenja, dužine foto perioda, brzine vetra i drugo (Morrell, 2020; Zuzana i sar, 2017).

Ako uz sve ovo uzmemo i klimatske promene, kao posledicu ljudske aktivnosti u poslednjih 150 godina, koje stavljaju veliki izazov pred poljoprivredu da obezbedi dovoljne količine hrane uz ograničene resurse, uz istovremeno očuvanje postojećih resursa (zemljište, voda i sl.) za generacije koje dolaze, vidimo koliko kompleksan zadatak čeka proizvodnju mleka u budućnosti, jer ubrzano globalno otopljanje pokazuje svoje znake širom planete. Prema NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration, <https://www.ncdc.noaa.gov/cag/global/time-series>) prosečna temperatura u periodu od 2008-2017 je viša za 0,7 °C u odnosu na prosečnu temperaturu izmerenu u 20. veku. U našoj zemlji, koja se nalazi u centralnom delu Balkanskog poluostrva, trend povećanja temperature prisutan je još od 80-tih godina 20. veka. Tako na primer, prosečna temperatura u periodu od 1996-2015. godine u našoj zemlji, bila je za 1,2 °C viša u odnosu na period od 1961-1980. godine (Vuković i sar., 2018).

Konstantna ambijentalna temperatura je jedan od najvažnijih činilaca komfora i dobrobiti životinja. Uticaj temperature ambijenata se procenjuje uporednim merenjem temperature vazduha i vlažnosti vazduha (eng. Temperature-Humidity Index, THI). Visoka temperatura vazduha u kombinaciji sa visokom relativnom vlagom u životinjskom okruženju povezana je sa problemima toplotnog stresa (Hill i Vall, 2015).

Iako su komfor i produktivnost goveda ugroženi tokom izlaganja hladnim, vlažnim i / ili vetrovitim uslovima (Mader i Griffin, 2015), uticaj toplog vremena na goveda ima sve veći značaj, posebno u kombinaciji sa globalnim zagrevanjem. Poslednjih 50 godina došlo je do značajnog napretka u sposobnosti predviđanja klimatskih uslova i događaja (Westcott, 2011). Ova sposobnost predviđanja događaja toplotnih talasa omogućila je proizvođačima stoke da primene strategije za ublažavanje predstojećih nepovoljnih klimatskih događaja. Reiczigel i sar. (2009) u

Mađarskoj, kao i Dunn i sar. (2014) u Velikoj Britaniji su nagovestili porast broja dana kada dolazi do toplotnog stresa na godišnjem nivou.

Visoke ambijentalne temperature na životinje u proizvodnji sve više utiču na proizvodne osobine i na sektor za proizvodnju mleka. Broj dana kada THI prelazi prag komfora (72) raste u SAD, Kanadi i Evropi. Toplotni stres je postao jedan od najvažnijih izazova sa kojim se suočava proizvodnja mleka danas (Dimov i sar., 2017).

Brouček i sar. (2009) navode da je gornja kritična temperatura od 24.0 do 27.0 °C, iznad koje je poremećen dobrobit mlečnih krava. Herbut i Angrecka (2012), navode da temperaturni opseg od -0,5 do 20 °C ima malo uticaja na proizvodnju mleka. Međutim, isti autori ukazuju da svaki stepen povećanja temperature vazduha iznad 25 °C, posebno u kombinaciji sa višom relativnom vlagom, može prouzrokovati toplotni stres, koji se može pojaviti već i na 25-27 °C. Letnje temperature širom sveta rastu, a neki istraživači predviđaju da će se ovaj trend nastaviti (Luber i McGeehin, 2008). Globalno, razni modeli za predviđanje klimatskih promena predviđaju porast temperature od 1.1 °C do 6.4 °C do kraja ovog veka (Nardone i sar., 2010).

Gotovo 50% kanadskih letnjih dana smatra se ekološki stresnim za muzne krave (Ominski i sar., 2002). Ovo ilustruje da većina geografskih lokaliteta, uključujući umerenu i severnu klimu, može biti osetljiva na ekstremne i smrtonosne vrućine. Toplotni stres je jedno od “najskupljih” pitanja s kojima se suočavaju progresivni držaoci životinja i zasigurno jedno od glavnih ograničenja efikasne i profitabilne poljoprivrede proizvodnje u zemljama u razvoju (Baumgard i Rhoads, 2012b).

Unos hrane po volji dovodi do velike količine metaboličke toplote koja u kombinaciji sa povišenom spoljašnjom temperaturom, nadmašuje sposobnosti životinja da održavaju toplotnu ravnotežu (Hahn, 1999). Godine 1999. preko 5000 goveda poginulo je tokom ekstremnog toplotnog talasa u severoistočnoj Nebraski (Brown i sar., 2006). U februaru 2000. godine, 1255 goveda na jugozapadu Novog Južnog Velsa uginulo je, a smrt je nastupila posle kiše, kada su klimatski uslovi predstavljali visoku relativnu vlažnost i visoku noćnu temperaturu (Entwistle i sar., 2000). U junu 2017. od 4000 do 6000 krava uginulo je u okruzima Fresno, Kings i Tulare u SAD-u tokom visokih spoljašnjih temperatura (Associated Press, 2019).

Srbija se nalazi na jugoistoku Evrope na Balkanskom poluostrvu i poslednjih decenija doživljava trend zagrevanja (Unkasević i Tosić, 2013) sa ubrzanim porastom temperature od 1980. (Ruml i sar., 2017). Negativni uticaji povećanja temperature, posebno u kombinaciji sa smanjenim godišnjim padavinama i produženim periodima suše, dovode do ekstremnijih ambijetalnih uslova do porasta frekvencije i intenziteta toplotnog stresa (Unkasević i Tošić, 2015). Vuković i sar. (2018) zaključili su da su da temperatura raste ubrzano, sa izraženijim porastom maksimalnih temperatura, naročito tokom leta. Na teritoriji Srbije, 2023. sa srednjom temperaturom vazduha od 12,5 °C, bila je najtoplija godina u periodu od 1951. godine do danas, a u Beogradu sa 14,8 °C je najtoplija od početka rada meteorološke stanice 1888. godine (Godišnji bilten za Srbiju, 2023). Najveće povećanje srednje godišnje temperature za period 1996-2015. od 1,8 °C, zabeleženo je tokom letnje sezone u odnosu na period od 1961-1980. Predviđanja su da će centralni i južni delovi Srbije u budućnosti najviše trpeti smanjenje dostupnosti vode i izražen porast temperature. Majkić i sar., (2017) utvrdili su da su se srednje maksimalne vrednosti THI na teritoriji AP Vojvodine u periodu 2005-2016 godine za sva tri letnja meseca jun, jul i avgust prosečno povećavale za 0,17, 0,29, 0,51 na godišnjem nivou. Takođe, utvrđeno je da je broj dana u kojima je THI izvan termalnog komfora krava, duže od 12 časova dnevno, u porastu je od 2005. godine do danas.

Najveći uticaj na variranje kvaliteta sperme je okruženje. Da bi se shvatio uticaj životne okoline na kvalitet sperme, neophodno je razumeti biološki značaj pojma „okruženje“, koje bi se moglo definisati kao skup svih faktora koji okružuju životinju a tu spadaju temperatura okoline, ishrana, vlažnost, sezonske promene i upravljanje životinjom i slično.

Toplotni stres se definiše kao broj uzastopnih dana, obično tri do pet, gde su maksimalni ambijentalni uslovi iznad određenog praga (Mader i sar., 2010). Tradicionalno se uticaj toplog vremena naziva toplotnim stresom. Goveda imaju sposobnost da podnesu mnogo veće temperature pri nižoj relativnoj vlažnosti vazduha. To je zbog činjenice da goveda mogu efikasnije da rasprše suvišnu toplotu. Međutim, za vreme toplog i vlažnog vremena, prirodna sposobnost goveda da rasprše toplotu znojenjem i disanjem je onemogućena i toplotni stres se kod tih stanja javlja mnogo brže (Tharinda i sar., 2023).

Stočarska industrija trpi velike ekonomske gubitke, jer se domaće životinje uzgajaju na lokacijama i sezonama u kojima temperaturni uslovi izlaze van njihove termalne zone komfora. Negativni uticaj toplotnog stresa na domaće životinje poznat je još od davnih vremena. Rezultati istraživanja negativnog uticaja toplotnog stresa variraju u zavisnosti od vrste, rase i pojedinih individua, ali najvažniji efekat je smanjenje proizvodne i reproduktivne sposobnosti (De Rensis i sar., 2015). Periodi toplog vremena su povezani sa zdravljem životinja, smanjenom reproduktivnom efikasnošću muških i ženskih goveda, kao i smanjenom konverzijom hrane (Sejian i sar., 2015). Za očekivati je da će klimatske promene imati znatan uticaj na ekonomska održivost životinjske poljoprivredne proizvodnje širom sveta.

2. 5. Negativan efekat mikroklimatskih uslova na mlečna goveda

Glavni cilj u govedarstvu, u poslednjih trideset godina, bio da se poboljša efikasnost proizvodnje i prinos mleka, pri čemu je uloga i primena genetike i selekcije bila jedna od najvažnijih. Sa druge strane, prirodni resursi za ovaj vid proizvodnje su ograničeni, takođe postojanje sve veće brige potrošača o uticaju ove proizvodnje na životnu sredinu, efekat na zdravlje i dobrobit grla, dodatno usložavaju održivo upravljanje ovim vidom stočarske proizvodnje. Značajan porast prinosa mleka po kravi rezultat je brzog genetskog napretka, kao i napretka u poboljšanju uslova držanja goveda, ishrane i menadžmenta na farmama.

Negativan uticaj mikroklimatskih uslova na proizvodnju mlečnih krava bio je predmet većeg broja domaćih i stranih istraživanja (Blackshaw i Blackshaw, 1994; Bohmanova i sar., 2007; Schuller i sar., 2014; Bogdanović i sar., 2016 i Herbut i Angrecka, 2018).

Prisustvo visokih temperatura i visoke relativne vlažnosti ometa proces otpuštanja viška telesne temperature koji se stvara visokom aktivnošću metaboličkih procesa kod visoko proizvodnih krava (Allen i sar., 2015 i Santos i sar., 2017), što ponekad može da dovede do pojave toplotnog stresa. Takođe, Hansen (2013) navodi da su visokoproizvodne krave u intenzivnim sistemima odgajivanja podložnije toplotnom stresu nego krave u ekstezivnim sistemima, što znači da će toplotni stres postati problem u intenzivnoj proizvodnji mleka, bez obzira na klimu.

Toplotni stres utiče na ukupne godišnje ekonomske gubitke američke industrije mleka u rasponu od 1,69 do 2,36 milijardi dolara, od čega 900 miliona dolara je specifičan gubitak za američku mlečnu industriju, koji potiče od smanjene proizvodnje mleka, slabije reprodukcije, i povećane smrtnosti (St-Pierre i sar., 2003).

Održavanje odgovarajuće mikroklimе na većini farmi je najvažniji izazov u savremenoj proizvodnji mleka, zbog toga što uslovi držanja imaju manje ili više značajan uticaj na mlečna goveda i proizvodnju mleka (Herbut i Angrecka, 2012). Toplotni stres i toplotni udar štetno utiču na proizvodnju mleka i njegov sastav kod mlečnih životinja, posebno na životinje visoke genetske vrednosti (Bouraoui i sar., 2002; Spiers i sar., 2004 i Gantner i sar., 2011).

U istraživanju koji su sproveli Kučević i sar. (2013) ustanovili su da za svaku jedinicu porasta vrednosti THI, količina mleka se smanjivala za 0,05344 kg. Bouraoui i sar. (2002) izveštavaju o padu proizvodnje mleka od 0,41 kg/dan, za svako povećanje tačke THI iznad 69. Prema Baumgard i Rhoads, (2013) pad proizvodnje mleka do 50% kod mlečnih životinja mogao bi biti posledica smanjenog unosa hrane usled delovanja toplotnog stresa. Rhoads i sar. (2009) ustanovili su da je toplotni stres smanjio unos suve materije za 35% kod krava holštajn frizijske rase. Povećanje proizvodnje mleka sa 35 na 45 kg/dan smanjuje prag temperature pri kojoj se javlja toplotni stres za 5 °C (Berman, 2005). Brugemann i sar. (2012) ustanovili su da u zatvorenim sistemima THI >60 i u pašnjačkim sistemima THI >70 predstavljaju prag iznad koga se uočava značajan pad prinosa mleka.

Vučković i sar. (2019) ustanovili su negativne korelacije ($p < 0,001$) između proizvodnih osobina mlečnih krava (prinos mleka, sadržaja mlečne masti, prinosa proteina i broja somatskih ćelija) i parametara mikroklimе (THI - indeksa) kod holštajn frizijske i simentalske rase goveda.

Suprotno ovim navodima, u istraživanju Cincović i sar. (2010) na nivou cele laktacije nije utvrđena značajna povezanost između THI i količine mleka i kvaliteta mleka na nivou cele laktacije. Toplotni stres koji je bio prisutan u srednjem intenzitetu nije uticao na značajan pad prinosa mleka, procenta mlečne masti i procenta proteina.

2. 6. Negativan efekat mikroklimatskih uslova na reprodukciju goveda

Toplotni stres može imati vrlo negativan uticaj na proizvodnju, reprodukciju i opšte zdravlje krava (Herbut i Angrecka, 2018 i Kučević i sar., 2013). Istraživanja su pokazala da toplotni stres izaziva mnoge negativne fiziološke posledice i značajne gubitke u proizvodnji mleka. Može se očekivati da će se tokom narednih nekoliko decenija klimatski uslovi za odgajivanje goveda još više pogoršati i ovaj problem će biti veoma značajan za stočare širom sveta. U nepovoljnim klimatskim uslovima, životinja može da smanji telesnu toplotu ubrzanim disanjem, napajanjem, znojenjem, smanjenim unosom hrane i smanjenom proizvodnjom mleka.

Pad reproduktivnih sposobnosti i kod muških i kod ženskih grla povezan je sa povećanjem toplotnog stresa. Ustanovljeno je da toplotni stres, bilo da deluje samo na testise ili na celo telo, negativno utiče na spermatogenezu i na održivost uskladištenih spermatozoida (Lees i sar., 2019). Pokazalo se da nizak kvalitet i kvantitet sperme doprinose značajnom procentu reproduktivnih neuspeha kod mlečnih goveda u veštačkom osemenjavanju (DeJarnette i sar., 2004). Stoga, selekcijsku uzgoj za poboljšanje osobina kvaliteta sperme ima potencijal da poveća procenat začeca, čime se snižavaju troškovi po laktaciji.

Toplotni stres može izmeniti endokrilni sistem kod bikova i uticati na kvalitet i smanjenu koncentraciju sperme. Takođe, visoka temperatura okoline može izazvati degeneraciju testisa i smanjen broj normalnih i plodnih spermatozoida u ejakulatu. Smatra se da toplotni stres negativno utiče i na količinu i na kvalitet proizvedene sperme. Povišena temperatura donosi ove uticaje kroz smanjeni unos hrane, izmenjeni spermatogeni ciklus i koncentraciju hormona (Prathap i sar.,

2017). Sagledavnje efekta toplotnog stresa je složen proces, jer toplotni stres ima istovremeno i trenutni i odložen efekat na reproduktivni sistem goveda oba pola (Roth i sar., 2000, 2001). Shodno tome, toplotni stres smanjuje plodnost krava i bikova, što sve zajedno rezultira smanjenim reproduktivnim performansama (Salah i Mogawer, 1990). Sezonske varijacije u karakteristikama sperme opisane u mnogim studijama (Argov-Argaman i sar., 2013; Snoja i sar., 2013).

Gwazdauskas (1985) navodi da ekstremi klimatskih faktora, koji se odnose na temperaturu okoline, vlagu, zračenje i vetar, utiču na okruženje i mogu štetno uticati na reprodukciju goveda. Toplotni stres otežava otkrivanje estrusa kod krava, negativno utiče na plodnost i smanjuje reproduktivnu sposobnost smanjujući efikasnost osemenjavanja. Takođe doprinosi povećanju otežanih teljenja, postporođajne paralize, povećanju broja mrtvorodenih teladi i upale sluznice materice (Roth, 2017).

2. 7. Negativan efekat mikroklimatskih uslova na spermatogenezu

Spermatogeneza je proces nastanka spermatozoida koji se neprekidno odvija tokom cele godine. Odvija se kod polno zrelih bikova u semenim kanalićima testis, kojih ima dve vrste: izuvijani (tubuli seminiferi) i pravi (tubuli seminiferi recti). Izuvijani semeni kanalići su obloženi kličinim epitelom sa dve vrste ćelija, Sertolijevim i Germinativnim ćelijama, koje nizom deoba i transformacija proizvode spermatozoide. Sertolijeve ćelije obezbeđuju odgovarajuće supstance kličinim ćelijama, luče regulatorne supstance i fagocituju rezidualna tela nastala tokom spermatogeneze (Gledić, 2012).

Klicine ćelije su smeštene između Sertolijevih ćelija i označavaju se kao spermatogene ćelije. Uz bazalnu membranu se nalaze matične ćelije (spermatogonije) koje se dele mitozom. Deobom spermatogonija započinje proces spermatogeneze. Jedan deo ovih ćelija i dalje zadržava sposobnost samoobnavljanja (matične ćelije), a druge se diferenciraju u primarne spermatocite. Primarni spermatociti ulaze u mejozu i posle prve deobe, od njih nastaju sekundarni spermatociti, a od njih posle druge deobe, spermatide. Spermatide se više ne dele već se transformišu u spermatozoide (Gledić, 2012). Primarni spermatociti se dele mejozom ili redukcijom deobom, gde se diploidni broj hromozoma (60 hromozoma), postavlja u ekvatorijalnu ravan i deli po dužini. Proizvod ove deobe su sekundarni spermatociti sa 30 duplih hromozoma. Daljom mejotičkom deobom sekundarnih spermatocita nastaju spermatide sa haploidnim brojem hromozoma. Spermatide se daljom metamorfozom preobražavaju u spermatozoide. Ovaj preobražaj se naziva spermatogeneza i tokom njega dolazi do značajne transformacije jedra, Goldžijevog sistema, centriola i mitohondrija.

Vremenski gledano, spermatogeneza može da se podeli u četiri faze. Prva faza je miotička deoba spermatogonija koje se dele četiri puta u vremenu od 15 do 17 dana i daju po 16 primarnih spermatocita. Druga faza je mejotička deoba spermatocita koja traje oko 20 dana, ovom deobom se prepolovi broj hromozoma i nastaju 32 sekundarna spermatocita. Treća faza je deoba sekundarnih spermatocita ili druga mejotička deoba, pri čemu nastaju spermatide i traje od nekoliko časova do jednog dana. Četvrta faza je metamorfoza, transformacija spermatida u spermatozoide i traje oko 15 do 18 dana (Gledić, 2012).

Spermatogeneza kod mladih bikova započinje sa 6-9 meseci života i zavisi od mnogih faktora kao što su ishrana, rasa, uslovi držanja, a kompletna je u uzrastu od 10 do 12 meseci. Spermatogeneza kod polno zrelih bikova teče ravnomerno tokom celog života sve do starosti,

kada postepeno prestaje usled atrofije semenog epitela. Mnoge strukturne abnormalnosti se javljaju u razvoju spermatozoida kao rezultat loše spermatogeneze, kako i zbog rukovanja semenom tokom i nakon sakupljanja (Salisbury i sar., 1978). Spermatogeneza traje kod većine sisara 35-60 dana. Diferenciranje spermatida u zrele spermatozoide dešava se pri prolasku kroz tkivo žlezdanog epitela testisa. Spermatozoidi napuštaju žlezdani epitel i ulaze u kanale testisa, a odatle u parasemenike, gde se odigrava njihovo dalje sazrevanje. Takođe nakon napuštanja epitela semenika odigravaju se promene u citoplazmi repića spermatozoida.

Ball i Peters (2004) izveštavaju da na karakteristike sperme ne utiču samo temperatura okoline u vreme uzimanja sperme od bikova, već i tokom sazrevanja sperme u epidermisu i tokom spermatogeneze, naime sveukupno oko 70 dana pre prikupljanja. Samim tim, periodi toplog vremena su povezani sa zdravljem životinja, smanjenom reproduktivnom efikasnošću muških i ženskih grla goveda, kao i smanjenom konverzijom hrane (Sejian i sar., 2015).

Takođe, negativni rezultati toplotnog stresa često se pojavljuju sa kašnjenjem, a može se dogoditi i efekat prenošenja, npr. letnji toplotni stres može uticati na krave u periodu jeseni (Herbut i Angrecka, 2018). Spermatogeneza i sazrevanje spermatozoida kod bikova traje oko 65 dana (Saunders, 2003). Kastelic i sar. (1996) navode da oporavak spermatozoida može trajati i do 8 nedelja nakon izloženosti bikova toplotnom stresu. Luceno i sar. (2020) su ustanovili da je progresivna pokretljivost za mlade bikove odmah nakon zamrzavanja po sezonama zima, proleće, leto i jesen iznosila: 45.9 ± 0.5 ; 46.8 ± 0.5 ; 46.6 ± 0.5 i 46.4 ± 0.5 , a za stare bikove: 46 ± 0.9 ; 47.6 ± 0.8 ; 47.8 ± 0.8 i 46 ± 0.8 .

Mathevon i sar. (1998) ustanovili su vrednosti za količinu ejakulata prosečno od 5,48 ml za mlade bikove i 6,73ml za stare bikove. primećeno je da zreli bikovi imaju veću količinu ejakulata od mladih, ali ne i koncentraciju spermatozoida. Sezona skupljanja značajno je uticala ne sve osobine mladih bikova i na većinu osobina zrelih bikova. Sezona nije uticala na zapreminu ejakulata zrelih bikova. U istraživanju D'Andre i sar., (2017) najveća količina ejakulata zabeležena je kod holštaj-friziskih bikova i iznosila je 5,76 ml. Međutim procenat pokretljivosti spermatozoida bio je najmanji kod holštajn bikova 40,43 % u odnosu na bikove džerzej rase 43,45 i injambo rase 42,20%.

2. 8. Negativan efekat mikroklimatskih uslova na kvalitet i kvantitet sperme bikova

Plodnost bikova je složena osobina koja se sastoji od nekoliko fizioloških procesa, kao što je razvoj reproduktivnog sistema od rođenja do puberteta, spermatogeneza, ejakulacija i ponašanje pri parenju (koje uključuje libido i kopulaciju). Za optimalan kvalitet sperme, svi ovi fiziološki procesi treba da budu koordinisani. Morfologija spermatozoida, pokretljivost, koncentracija spermatozoida i zapremina po ejakulatu su uobičajni kriterijumi za procenu kvaliteta sperme u većini centara za veštačko osemenjavanje (Den Daas, 1992; Bearden i Fuquay 1997).

Kada je reč o osobinama kojima se najčešće definiše proizvodnja i kvalitet sperme pre i nakon dubokog zamrzavanja, posmatra se i meri: količina ejakulata, gustina ejakulata, pokretljivost spermatozoida, broj dobijenih doza pri svakom skoku bika, ocena sperme nakon zamrzavanja i broj pokretljivih spermatozoida.

Važniji faktori koji utiču na kvalitet sperme su i oni koji se odnose na razvijenost testisa (King, 1993). Hoogenboezem i Svanepoel (2000) su izvestili da bi problemi degeneracije testisa mogli biti: izloženosti toplotnom stresu, nedostacima u ishrani i faktorima vezanim za upravljanje,

kao što su taloženje masti u skrotumu i loše stanje tela. Promene izazvane temperaturnim stresom u proizvodnji sperme bikova ogledaju se u pokretljivosti i morfologiji spermatozoida, njihovoj vitalnosti, koncentraciji, kao i sposobnost zamrzavanja i kvaliteta sperme posle odmrzavanja, uspešnosti oplodnje i ranog razvoja embriona (Garcia-Oliveros i sar., 2022; Luceno i sar., 2020; Rahman i sar., 2013), bez obzira da li su uticaju toplotnog stresa izloženi samo testisi ili celo telo.

Mathevon i sar. (1998) izvestili su da je interakcija između starosti i godišnjeg doba mogla imati značajan uticaj na karakteristike sperme holštajn frizijskih bikova. Sezonski faktori, posebno temperatura, imaju značajan uticaj na proizvodnju spermatozoida kod većine bikova, ali individualni odgovor na termički stres je različit.

Važnu ulogu na kvalitet i količinu native sperme i sperme nakon zamrzavanja ima i starost bika. Iako su mladi bikovi podložniji temperaturnom stresu, toplotni stres izraženije deluje na spermatogenezu starijih bikova (Morrell, 2020.; Luceno i sar., 2020. i Majić i sar., 2012.)

Negativan efekat na parametre sperme registrovan je uglavnom u toplim godišnjim dobima, tokom meseci sa prosečnom temperaturom od oko 20°C. Brojne studije bile su posvećene identifikaciji faktora koji utiču na proizvodnju spermatozoida i kvalitet sperme. Međutim, postoje neke razlike, čak protivrečnosti u pogledu uticaja sezone na proizvodnju sperme. Neke studije (Mathevon i sar., 1998.) pokazale su značajan uticaj sezone na proizvodnju sperme, dok neke druge studije nisu otkrile bilo kakav uticaj sezone na proizvodnju spermatozoida (Brito i sar., 2002).

Utvrđeno je da se učestalost abnormalnih spermatozoida povećava sa faktorima kao što su povišene temperature, toplotni stres i neadekvatna ishrana. Neuhranjenost uključuje nedovoljno hranjenje, kao i nedostatke određenih hranljivih materija koje se uglavnom javljaju kao posledica lošeg menadžmenta, što dovodi do smanjenog volumena ejakulata i slabije pokretljivosti spermatozoida. Toplotni stres smanjuje apetit, a samim tim i unos hrane. Manji unos hrane će verovatno dovesti do smanjene reproduktivne sposobnosti bikova i kvalitet sperme (McDowell, 1972). Mathevon i sar. (1998) su izvestili da je sezona značajno uticala na morfologiju sperme kod mladih bikova, ali nisu značajno uticale na zapreminu ejakulata i pokretljivost spermatozoida kod zrelih bikova.

Prathap i sar. (2017) ukazuju na štetne efekte toplotnog stresa za sve vrednosti THI preko 60, posebno na količinu sperme, pokretljivost spermatozoida, broj doza sperme po ejakulatu i koncentraciju sperme. Kod ekstremno visokog THI mlađi bikovi su imali manje gubitke sperme, u odnosu na starije. Optimalno okruženje za proizvodnju sperme mereno THI kretalo se u rasponu 50 do 60.

Prema istraživanju Valeanu i sar. (2015), nisu nađene značajne razlike u pokretljivosti spermatozoida bikova tokom različitih godišnjih doba, dok drugi autori izveštavaju o značajno izmenjenim karakteristikama sperme bikova u različitim godišnjim dobima. Zimska sezona proglašena je najboljom za proizvodnju sperme u istraživanjima Argov-Argaman i sar. (2013) i Alragubi (2015). Većina istraženih studija pokazuje negativan uticaj toplotnog stresa na osobine plodnosti bikova. Štetni efekti toplotnog stresa uključuju smanjen broj spermatozoida u ejakulatu bikova i fenomen „letnje sterilnosti“, tj. depresiju seksualne aktivnosti usled toplotnog stresa (Setchell, 1998). Direktna toplotni stres pokazao je neželjene efekte na smanjenu oplodnju i razvoj embriona (Rahman i sar., 2013), visok procenat abnormalnih spermatozoida (Silva i sar., 2007), zapreminu ejakulata i koncentraciju sperme (Snoja i sar., 2013; Teixeira i sar., 2011).

Toplotni stres značajno smanjuje kvalitet sperme bikova i nedavno je dobio veću pažnju zbog toplije globalne klime i intenzivnije proizvodnje. U istraživanju Cheng i sar. (2016) ispitivan

je uticaj toplotnog stresa na kvalitet sperme i pridružene molekularne mehanizme, kao i kvaliteta sperme i aktivnosti enzima u vezi sa akrozomalnom reakcijom. Navedena istraživanja procenjuvana su na bikovima simentalke i limuzin rase. U istraživanju su primećene promene u profilima ekspresije proteina kod simentalčkih bikova.

Toplotni stres može izmeniti endokrini sistem kod bikova i uticati na kvalitet i smanjenu koncentraciju sperme. Takođe, visoka temperatura okoline može izazvati degeneraciju testisa i smanjenje broja normalnih i plodnih spermatozoida u ejakulatu. Smatra se da toplotni stres negativno utiče i na količinu i na kvalitet proizvedene sperme. Povišena temperatura donosi ove uticaje kroz smanjeni unos hrane, izmenjeni spermatogeni ciklus i koncentraciju hormona (Prathap i sar., 2017).

Rezultati istraživanja Gholami i sar. (2011) pokazali su da su polizasićene masne kiseline iz porodice omega 3 masnih kiselina važne za integritet membrana spermatozoida, pokretljivost i vitalnost sperme bikova holštajn frizijske rase. Toplotni stres je uticao na parametre kvaliteta sperme od pete do devete nedelje ispitivanja ($p < 0,05$). Suplementacija omega 3 masnim kiselinama je značajno povećala ukupnu pokretljivost, progresivnu pokretljivost i prosečnu brzinu spermatozoida u svežoj spermi bikova ($p < 0,05$).

Dugoročne temperature preko 22°C izazivaju degenerativne promene epitela sperme uz istovremene promene u metabolizmu. Ovaj stres rezultira smanjenjem gonadotropnih hormona (Hofirek i sar., 2009). Alragubi (2015) u svom istraživanju nije našao značajne razlike u zapremini ejakulata prikupljenih u različitim sezonama. Dobijene vrednosti u njegovom istraživanju iznosile su za prosečnu pokretljivost $78,11 \pm 16,91\%$, prosečnu koncentraciju spermatozoida $1,03 \pm 0,41 \times 10^9/\text{ml}$, prosečnu zapreminu ejakulata $8,88 \pm 3,32 \text{ ml}$ i $424,33$ prosečno proizvedene doze sperme po biku.

Ukupna pokretljivost sveže i zamrznute sperme u istraživanju (Hossain i sar, 2022) se značajno razlikuju ($p < 0,01$). Najveća koncentracija spermatozoida u njihovom istraživanju je nađena kod bika rase Munšigandž iz Bangladeša ($1669,60 \pm 192,07 \times 10^6/\text{ml}$), takođe najveći broj doza je dobijen od bikova navedene rase ($394,34 \pm 127,95$).

Stoga, cilj ovog istraživanja pored ostalog je da se procene efekti sezone prikupljanja sperme kao i klimatski uslovi predstavljeni kombinacijom prosečne ambijentalne temperature i prosečne relativne vlažnosti vazduha u formi toplotno humidnog indeksa (THI) na parametre kvaliteta i kvantiteta sperme.

2. 9. Uticaj bikova - očeva na kvalitet i kvantitet sperme

Malo se zna o genetskoj varijabilnosti osobina kvaliteta sperme kod goveda i njihovim međusobnim odnosima. Velike razlike kvaliteta i količine sperme su ustanovljene između različitih rasa bikova. Sa napretkom tehnologije seksirane sperme razvija se potreba za većim količinama sperme ispitivanog kvaliteta i kvantiteta.

Takođe je poznato da postoji značajna genetska varijabilnost između i unutar reproduktivnih osobina muških priplodnih grla goveda, do sada je zabeležen mali broj podataka o genetskim parametrima (heritabilitet, repitabilitet i genetske korelacije) osobina kvaliteta sperme tokom procesa krioprezervacije (Berri i sar., 2019).

Studije o genetskim parametrima osobina kvaliteta sperme ukazuju na umerene procene heritabiliteta Berry i sar. (2014) navode da su se vrednosti heritabiliteta za kvalitet sperme kretale prosečno u intetvalu od 0,05 i 0,22. Yin i sar. (2019) navode vrednosti heritabiliteta za kvalitet sperme od 0,12 do 0,22. Dok su Olsen i sar. (2020) evidentirali vrednosti naslednosti za kvalitet sperme od 0,02 do 0,14.

S obzirom da na uspešnost oplodnje bikova značajno utiče kvalitet sperme (DeJarnette i sar., 2004) i da je u visokoj genetski korelaciji sa stopom kocepcije kod ženki (Berri i sar., 2011), selekcija za osobine kvaliteta sperme može potencijalno dovesti do poboljšanje stope koncepcije ne samo kod bikova već i kod ženskih priplodnih grla (Berri i sar., 2014).

Pored toga, poboljšanje kvaliteta sperme ima potencijal da poveća količinu sperme koja se proizvodi od genetski superiornih bikova, čime se omogućava široka dostupnost sperme elitnih bikova po prihvatljivoj ceni (Butler i sar., 2019).

2. 10. Uticaj starosti na kvaltet sperme bikova

U najvećem broju istraživanja, koja su se bavila kvalitetom sperme bikova, starost bikova je isticana kao veoma važan faktor. Tako su Mathevon i sar. (1998) ustanovi razlike u karakteristikama kvaliteta sperme u ejakulatima mladih i starih bikova. Volumen ejakulata kod maladih bikova bio je 5,45 ml, a starih 6,73 ml; koncentracija spermatozoida $1296 \times 10^6/\text{ml}$ kod mladih bikova, $1380 \times 10^6/\text{ml}$ kod starih; procenat pokretljivosti 51% kod mladih i 57% kod starih bikova.

U istraživanju Prastowo i sar. (2019) kod bali rase goveda u Indoneziji ustanovljeno je povećanje zapremine ejakulata sa 4,87 ml na 5,62 ml, sa povećanjem starosti bikova sa 4 na 7 godina. Uticaj starosti u njihovom istraživanju bio je značajan na volumen ejakulata i gustinu ejakulata ($p < 0.05$). Gustina ejakulata se povećala sa starošću bikova sa $1036,26 \times 10^6/\text{ml}$ na $1113,32 \times 10^6/\text{ml}$.

Volumen ejakulata u istraživanju Murphy i sar. (2018) bio je u pozitivnoj korelaciji sa uzrastom bika ($P < 0,01$) i povećao se za približno 0,5 ml godišnje. Takođe bikovi starosti između 1 i 2 godine imali su veću koncentraciju spermatozoida po ejakulatu od bikova mladih od 1 godine ili više od 2 godine ($p < 0,05$).

U istaživanju Marinković i sar. (2020), bikovi su bili podeljeni u tri starosne kategorije. Starost bika značajno je uticala na volumen ejakulata i broj doza, ali nije značajno uticala na ostale parametre kvaliteta sperme. Najveće vrednosti za volumen ejakulata i broj doza ustanovljene su kod bikova starih oko 4 godine (5,8 ml i 474,9 doza), a najmanje kod mladih bikova starih oko 2 godine (4,6 ml i 299 doza). Koncentracija spermatozoida se prosečno kretala za bikove stare 2, 4 i 6 godina $1092,1$; $1076,7$ i $997,9 \times 10^6/\text{ml}$, a pokretljivost posle zamrzavanja 51,65%; 49,44% i 51,72 %.

2. 11. Ponovljivost pokazatelja kvaliteta i količine nativnog i sperme nakon zamrzavanja

Razumevanje koncepta i poznavanje repitabiliteta - ponovljivosti je ekonomski važna odlika koja znatno pomaže pri odluci koje bikove odabrati i zadržati za proizvodnju sperme.

Sve procene ponovljivosti reprezentuju neke vidove korelacija. Procene ponovljivosti su korisne kada se vrši selekcija bikova, budući da nam one pomažu da napravimo najbolju moguću pretpostavku kako će se ispitivane osobine bikova ispoljavati u narednom periodu.

Veliki broj osobina koje su od primarnog značaja kada je reč o proizvodnji sperme, kao što su količina ejakulata, gustina, procenat pokretljivosti spermatozoida, mogu se meriti više puta tokom produktivnog života grla. Na osnovu većeg broja merenja jedne osobine kod iste životinje moguće je izračunati koeficijent ponovljivosti za datu osobinu. Takođe, koeficijent ponovljivosti se upotrebljava za izračunavanje potencijalne proizvodne sposobnosti (PPS) grla na osnovu prvih proizvodnih rezultata. Za osobine sa visokim repitabilitetom, ponovljeni rezultati nisu od velike koristi, zbog toga što je procena individue već dobijena posle prvog rezultata. U takvom slučaju jedan rezultat predstavlja bolji indikator realne proizvodne sposobnosti od nekoliko rezultata za osobine sa niskim repitabilitetom.

Između koeficijenta ponovljivosti ili repitabiliteta i koeficijenta naslednosti (heritabiliteta) postoji pozitivna korelativna veza. I jedan i drugi pokazatelj imaju vrednosti između 0 i 1. Prema tome, repitabilitet za neku osobinu je proporcija ukupne fenotipske varijanse koja pripada permanentnim razlikama između individua. Ponovljivost samim tim predstavlja gornju granicu – limit heritabiliteta. Izražavanje repitabiliteta se vrši postupkom analize varijanse pri čemu se ukupna varijansa rasčlanjava na varijabilnost između i unutar merenja. Za razliku od heritabiliteta, za izračunavanje repitabiliteta nije potrebno grupisati grla po srodstvu. Najveća vrednost visoke ocene repitabiliteta jeste ušteda vremena u donošenju odluke o isključivanju neke životinje iz proizvodnje (Đedović, 2015).

Imajući u vidu sličnost formula za izračunavanje heritabiliteta i repitabiliteta, vrednost repitabiliteta se takođe može povećati: ujednačavanjem okoline, boljom tačnošću merenja performanse životinja i matematičkim korigovanjem rezultata za poznate uslove okoline. Heritabilitet se definiše kao jačina veze između performanse, odnosno fenotipske vrednosti i priplodne vrednosti za posmatranu osobinu iz populacije, ili kao mera superiornosti roditelja u odnosu na njihove vršnjake koja se u praksi prenosi na potomstvo (Bourdon, 2000). Repitabilitet za neku ponovljenu osobinu je proporcija ukupne fenotipske varijanse koja pripada permanentnim razlikama između individua. Određuje stepen od koga će zapažene razlike u preformansi između životinja biti ponovljene u budućim periodima (Đedović, 2015).

Gebreyesus i sar. (2021) su ispitivali naslednost i ponovljivost osobina kvaliteta sperme, procene heritabiliteta bile niske do umerene (0,06 - 0,45), dok su procene ponovljivosti bile uglavnom umerene do visoke (0,35 – 0,61). U njihovom istraživanju broj doza po ejakulatu je imao najveću procenu heritabiliteta i ponovljivosti, dok su procene za koncentraciju spermatozoida nakon zamrzavanja bile najniže.

Tabela 1: Procenjene vrednosti naslednosti za volumen sperme, pokretljivost spermatozoida, broj doza i koncentraciju sperme bikova različitih rasa

Autori	n	Rasa	Zapremina ejakulata	Pokretljiv. spermatoz.	Koncentrac. sperme
Karoui i sar. (2011)	42348	holštajn	0.22	0.16	0.19
Druet i sar. (2009)	2131	holštajn	0.22	0.43	0.19
Carabaño i sar. (2007)	8773	holštajn	0.23 do 0.36		
Mathevon i sar. (1998a)		holštajn	0.24 do 0.44	0.01 do 0.31	0.36 do 0.52
Diarra i sar. (1997)	294	holštajn	0.53	0.51	0.37
Gredler i sar. (2007)	12746	simentalska	0.18	0.04	0.14
Stålhammar i sar. (1989)	215	šved.holštajn	0.2	0.18	0.17
Ducrocq i Humblot (1995)	2387	normadijska	0.65	0.23	0.37

Slične vrednosti heritabiliteta za mlade bikove su ustanovili Udala i Lasota (1988) i to 0,26 za volumen ejakulata i 0,56 za koncentraciju spermatozoida. Za zapreminu ejakulata procene vrednosti koeficijenta naslednosti su varirale od 0,13 (Lang i sar., 1988) do 0,65 (Ducrocq i Humblot, 1995), nešto više vrednosti repitabiliteta ustanovio je Gorobets (1987) od 0,71 za zapreminu ejakulata, a najniže vrednosti heritabiliteta ustanovio je Taylor (1985) u iznosu od 0,23.

2. 12. Korelacije između osobina količine i kvaliteta sperme bikova

Osobine količine i kvaliteta sperme imaju veliki ekonomski značaj, pa je za povećanje produktivnosti bikova neophodno da se selekcija usmeri na veći broj osobina koje su fenotipski i genetski povezane. Primenom selekcije na više osobina mogu se smanjiti neželjena izlučenja i povećati životna proizvodnja životinja (Stanojević i sar., 2018).

Kada se posmatraju dve osobine individue, njihova međusobna zavisnost može biti korisna. Dve osobine su pozitivno povezane kada većina životinja, koje imaju visoke vrednosti za prvu osobinu, takođe imaju visoke vrednosti za drugu osobinu. koeficijent korelacije meri stepen povezanosti između dve osobine. Predstavlja apstraktnu vrednost koja ne poseduje zajedničke jedinice mere. Varira između (-1) i (+1) (Đedović, 2015).

Uprkos važnosti kvaliteta sperme koja se koristi pri veštačkom osemenjavanju, za uspešnost oplodnje mlečnih goveda, u literaturi nema puno studija koje su kvantifikovale korelacije između osobina kvaliteta sperme.

Osobine kvaliteta sperme se rutinski beleže u centrima za reprodukciju i veštačko osemenjavanje, radi donošenja odluka o proizvodnji i marketingu. Dakle, dostupan je velik broj podataka o ovim osobinama koji mogu biti važan izvor koreliranih informacija za poboljšanje tradicionalnih osobina plodnosti registrovanih kod bikova (Gebreyesus i sar., 2021).

Gebreyesus i sar. (2021) uočili su negativne fenotipske korelacije između volumena ejakulata i gustine ejakulata pre i posle zamrzavanja (-0,004; -0,17), pozitivne fenotipske korelacije između volumena ejakulata i pokretljivosti spermatozoida pre i posle zamrzavanja (0,18; 0,02), kao i između volumena ejakulata i broja doza po ejakulatu (0,76). Takođe ustanovljene su pozitivne korelacije između pokretljivosti spermatozoida pre i posle zamrzavanja (0,19).

Berry i sar. (2014) su ustanovili negativne genetske i fenotipske korelacije između volumena ejakulata i gustine ejakulata (-0,16).

2. 13. Naučni ciljevi istraživanja

Teorijskim i praktičnim istraživanjima, izvršenim u ovoj disertaciji, razmatranana je genetska i fenotipska varijabilnost kvaliteta native sperme i sperme nakon zamrzavanja, sa posebnim naglaskom uticaja toplotnog stresa u vreme spermatogeneze i u vreme uzimanja sperme.

Naučni značaj ogleda se u činjenici da rezultati istraživanja daju doprinos u odgovoru na pitanje kako poboljšati kvalitet sperme koja se koristi za veštačko osemenjavanje, i na taj način uticati na poboljšanje reproduktivnih parametara priplodnih junica i krava, što direktno utiče na količinu proizvedenog mleka kao i na troškove proizvodnje.

Takođe, ovo istraživanje daje doprinos i rešavanju problema proizvodnje sperme u uslovima toplotnog stresa i upućuju na postupke koji se mogu primeniti kako bi se omogućila stabilnija proizvodnja kvalitetnije sperme za veštačko osemenjavanje tokom cele godine i tako uticalo ne samo na reproduktivnu efikasnost bikova, već i na reprodukciju i proizvodnju krava, što bi u krajnjoj instanci značilo veću proizvodnju mleka i po obimu i po profitabilnosti.

Glavni ciljevi istraživanja ove doktorske disertacije bili su:

- da se primenom optimalnih matematičko-statističkih modela ispita fenotipska i genetska varijabilnost proizvodnje i kvaliteta native i sperme nakon dubokog zamrzavanja;
- da se utvrde i definišu periodi tokom godine kada je proizvodnja sperme pod izraženim negativnim uticajem toplotnog stresa;
- da se primenom toplotno humidnog indeksa (THI) ustanovi uticaj toplotnog stresa na proizvodnju i kvalitet sperme bikova;
- da se utvrdi i proceni mogući deficit u proizvodnji sperme pod uticajem toplotnog stresa, kao i da se eventualni deficit upotrebi kao selekcijski kriterijum u odgajivačkim programima za bikove holštajn frizijske rase u našim uslovima.
- da rezultati istraživanja doprinesu boljem kvalitetu native i duboko zamrznute sperme tokom cele godine.

2. 14. Osnovne hipoteze od kojih se polazi

Pri koncipiranju programa i ciljeva istraživanja u ovoj disertaciji pošlo se od sledećih hipoteza:

- da na proizvodnju i kvalitet sperme bikova utiču genetski i negenetski faktori;
- genotip bikova značajno utiče na količinu i kvalitet native sperme i zamrznutog semena;

- manifestacija toplotnog stresa predstavlja složenu interakciju klimatskih faktora (temperatura, vlažnost, zagađenje vazduha, nadmorske visine, UV zraka...) i fiziologije organizama kojima je izložen;
- da toplotni stres direktno utiče na količinu i kvalitet sperme pre i posle zamrzavanja;
- da se efekti umerenog i jakog toplotnog stresa razlikuju;
- da vrednost THI u vreme početka spermatogeneze utiče na osobine plodnosti bikova.

3. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA

3. 1. Materijal i ispitivane osobine

U skladu sa etičkim standardima, istraživanje je obavljeno na osnovu proizvodnih rezultata 32 holštajn-frizijska bika, koji su proizvodili spermu u periodu od 2017. do 2019. god. u Centru za reprodukciju i transfer embriona, Padinska Skela - Beograd, Srbija (44°49'14", 20°27'44'), nadmorske visine 116,75 m. Ovaj Centar je bio lokalnog karaktera i proizvodio je spermu bikova dominantno za potrebe matične kompanije, Poljoprivredne korporacije Beograd, koja je u tom periodu uzgajala oko 7000 muznih krava holštajn frizijske rase i prateći ženski podmladak, ali i za potrebe izvesnog broja farmi u okolini Beograda i manjeg dela Vojvodine (ukupno oko 12000 krava sa pratećim podmlatkom). Program proizvodnje bikova se bazirao na odabiru najboljih krava – bikovskih majki, koje su osemenjavane uvoznim semenom holštajn-frizijskih bikova. Zdrava telad su dovođena u Centar sa oko 6 meseci starosti, gde im se pratio telesni razvoj i gde su pripremana za skokove. Tokom uvođenja mladih bikova u Centar vršeno je merenje telesne mase, visine grebena, obima grudi, širine i dubine grudi, širine kukova i karlice i obima skrotuma. Sa navršenih 11, 12 i 13 meseci starosti, ponovo su mereni isti parametri, na osnovu kojih je izračunavan performans test telesne razvijenosti i porasta. Bikovi koji su zadovoljili kriterijume testa su potom držani u grupnim boksevima (4-5 bikova) kako bi se podsticali na naskakivanje i podstakli libido. U to vreme se vršilo i prvo uzimanje sperme i uvođenje u proizvodnju. Nakon kolektiranja prvih 900-1000 doza, seme se slalo na farme gde se vršio biološki test, a proizvodnja sperme je nastavljana u ograničenoj količini, jer se nije želelo stvaranje velikih zaliha, zbog ograničenog tržišta na kojem se seme plasiralo i ukupnog finansijskog poslovanja.

Biološki test je prvi u nizu progenih testova. Njegova uloga je dvostruka, prvo da se ustanovi fertilnost sperme u biološkom ogledu, a potom da se ustanovi telesna razvijenost i vitalnost potomaka bika, lakoća telenja, te broj mrtvorodenih teladi i teladi sa naslednim anomalijama. Seme je raspoređivano na farme po unapred utvrđenom planu i njime su osemenjavane krave koje su u to vreme bile u estrusu, dok se ne utroše sve doze semena. Bikovi koji su imali visoke utroške semena po oplodenoj kravi, kao i oni koji su imali više od 7% mrtvorodenih potomaka i više od 5% potomaka sa anomalijama su isključivani iz proizvodnje, a proizvedeno seme je uklanjano. Seme bikova kod kojih je ustanovljen veći udeo teških teljenja nije korišćeno za osemenjavanje junica.

Bikovi koji su proizvodili spermu su držani u individualnim boksevima sa ispustima, a sperma se uzimala 2 puta nedeljno u sali sa stojnicom, koja je povezana sa objektima za držanje. Sperma se uzimala sterilisanom, temperiranom veštačkom vaginom sa kalibrisanim spermosabirnikom. Nakon skoka, evidentirana je količina sperme – KE, izražena u mililitrima (ml). Broj spermatozoida je utvrđivan aparatom ACCUREAD (IMV, France), na osnovu čega je utvrđivana gustina ejakulata – GE (koncentracija spermatozoida) u 10^6 u 1 ml sperme. Pokretljivost spermatozoida u nativnoj spermi - PSNS se utvrđivala mikroskopskim pregledom binokularnim mikroskopom **NIKON Eclipse E100** sa uvećanjem 10 – 40 puta i ocenjivana je kao gruba pokretljivost po sledećoj skali:

1. VRLO SLABA: vrlo malo pokretljivih spermatozoida koji se kreću u krug (do 20% ukupno pokretnih)
2. SLABA: mali broj i slaba pokretljivost spermatozoida (20-40% ukupno pokretnih)

3. SREDNJA: usporeno kretanje spermatozoida (40-70% ukupne pokretljivosti)
4. DOBRA: energična pokretljivost 70-90% spermatozoida
5. VRLO DOBRA : gusta sperma sa vrlo energičnim kretanjem više od 90% spermatozoida

Ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja - OSNZ je vršena na skali od 1 do 5, na osnovu udela pokretljivih spermatozoida, a sama pokretljivost nakon zamrzavanja – PSNZ kao udeo progresivno pokretljivih spermatozoida (%). Ocena je vršena upotrebom istog, binokularnog mikroskopa **NIKON Eclipse E100** sledećoj skali:

1. NEUPOTREBLJIVO SEME: manje od 50% progresivno pokretnih spermatozoida;
2. UPOTREBLJIVO SEME sa 50,1 do 55 % progresivno pokretnih spermatozoida;
3. UPOTREBLJIVO SEME sa 55,1 do 60 % progresivno pokretnih spermatozoida;
4. UPOTREBLJIVO SEME sa 60,1 do 65 % progresivno pokretnih spermatozoida;
5. UPOTREBLJIVO SEME sa više od 65,1 % progresivno pokretnih spermatozoida;

Na osnovu količine ejakulata i gustine sperme izračunavan je ukupan broj spermatozoida u ejakulatu, koji se potom delio sa brojem spermatozoida koji su željeni u jednoj dozi i tako se dobijao maksimalni broj doza semena koje se mogu dobiti iz ejakulata. Dobijeni broj se množio sa zapreminom 1 minipajete (0.25mL) i dobila se ukupna količina razređenog semena. Razređenje semena - RS se izračunavalo oduzimanjem količine ejakulata od ukupne količine razređenog semena i razlika se delila sa količinom ejakulata, a dobijeni rezultat je predstavljao broj delova razređivača koji se dodaje na jedan deo količine semena. Na osnovu toga se utvrđivala količina razređivača koja se dodavala na količinu ejakulata.

Ukupan broj spermatozoida (UBS) = KE x GE

Broj spermatozoida u jednoj dozi (BSD)

Maksimalan broj doza (MBD) = UBS / BSD

Ukupna količina razređene sperme (UKRS) = MBD x 0,25

Razređenje sperme (RS) = (UKRS – KE) / KE

Sperma napunjena mašinom za punjenje u odštampane minipajete, polagalo se na rampe i deponovalo u frižider na ekvilibraciju na temperaturi +4°C u trajanju 4-5 časova. Nakon toga, seme je polagano u pare tečnog azota na -125°C u trajanju 8-10 minuta, a zatim u tečni azot na -196°C. Prva kontrola semena i postupka zamrzavanja se vršila nakon 2 dana i tada se odbacivalo seme koje nije imalo zadovoljavajući kvalitet, dok se kvalitetno seme odlagalo u karantin, koji je trajao 45 dana. Nakon karantina vršena je druga provera kvaliteta u kojoj je ocenivana pokretljivost nakon zamrzavanja – PSNZ i kvalitet semena – OSNZ, a seme koje je zadovoljavalo kvalitetom je smešteno i trajni depo i to je broj zamrznutih doza – BZD.

Ocenjivanje uzoraka sperme, određivanje razređenja i broja doza za zamrzavanje je vršio glavni tehnolog u Centru za reprodukciju i ET, koji je prema sistematizaciji radnih mesta morao biti diplomirani veterinar specijalista za reprodukciju. Sperma koja nije imala dovoljan broj progresivno pokretljivih spermatozoida ili nedovoljnu gustinu je evidentirana kao skok, merena je količina ejakulata, ocenjivana joj je pokretljivost spermatozoida i potom je odbacivana. Ulaganja u opremu i tehnologiju su bila vrlo ograničena, s obzirom na veličinu Centra za

reprodukciju i ET i količinu semena koja se godišnje proizvodila i distribuirala, a tokom letnjih meseci od bikova sa problematičnim kvalitetom semena, uglavnom, nije uzimano seme.

Podaci o temperaturi i vlažnosti vazduha su dobijeni merenjem u objektu u kojem su bikovi bili stacionirani. Senzori su bili smešteni u uređajima za automatsku registraciju mikroklimatskih parametara, tj. u logeru podataka AMTAST, AMT-116. Merenja su vršena na svakih 60 minuta tokom trajanja istraživanja.

THI se izračunavao formulom (Dunn i sar., 2014):

$$\text{THI} = (1.8 \times T + 32) - (0.55 - 0.0055 \times \text{RH}) \times (T - 26.8)$$

u kojoj su:

T – Temperatura u objektu, °C

RH – Relativna vlažnost vazduha, %

THI – indeks u određenom danu je prosečna vrednost THI po satima u tom danu.

Kategorizacija tiplotnog stresa je vršena na osnovu THI i tumačena je prema Ekine-Dzivenu i sar. 2020:

BEZ STRESA = $\text{THI} \leq 66$

BLAGI STRES = $\text{THI} 67-71$

UMERENI STRES = $\text{THI} 72-78$

JAK STRES = $\text{THI} 79-81$

VEOMA JAK STRES = $\text{THI} \geq 82$

Uticaj temperaturnog stresa je ispitivan na nativnu spermu i spermu nakon zamrzavanja u uslovima kada je THI meren na početku spermatogeneze (60 dana pre uzimanja sperme) i na dan uzimanja semena:

Tabela 2: Analizirane osobine količine i kvaliteta sperme bikova

Naziv analiziranih osobina	Skraćenica
Količina ejakulata, ml	KE
Gustina ejakulata, $\times 10^6/\text{ml}$ nativne sperme	GE
Pokretljivost spermatozoida u nativnoj spermi	PSNS
Razređenje sperme, $\times/1$	RS
Ocena kvaliteta semena nakon zamrzavanja	OSNZ
Pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja	PSNZ
Broj zamrznutih doza	BZD

3. 2. Primenjeni matematičko-statistički modeli

Statistička obrada podataka je vršena programskim paketom. IBM SPSS Statistics za Windows, verzija 25.0 objavljena 2017. godine. Primenjena su dva modela višefaktorijalne analize varijanse po slučajnom planu, do kojih se došlo postupkom korak po korak:

- a. Fiksni model za ispitivanje uticaja godine, sezone, uzrasta bikova i jačine toplotnog stresa na kvalitet i količinu native sperme i semena nakon zamrzavanja u uslovima toplotnog stresa na početku spermatogeneze i na dan uzimanja sperme je imao sledeći izgled:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + S_j + BA_k + THI_l + e_{ijkl}$$

U kojem su:

Y_{ijkl} = Posmatrani parametar količine i kvaliteta sperme

μ = opšti prosek

G_i = fiksni uticaj i-te godine uzimanja sperme

S_j = fiksni uticaj j-te sezone uzimanja sperme

BA_k = fiksni uticaj k-te grupe prema starosti bika

THI_l = fiksni uticaj l-te kategorije toplotnog stresa

e_{ijkl} = slučajna greška

- b. Fiksni model za ispitivanje uticaja genotipa bika na kvalitet i količinu native sperme i sperme nakon zamrzavanja u uslovima toplotnog stresa imao sledeći izgled:

$$Y_{ijkl} = \mu + B_i + G_j + S_k + THI_l + e_{ijkl}$$

U kojem su:

Y_{ijkl} = Posmatrani parametar količine i kvaliteta sperme

μ = opšti prosek

B_i = fiksni uticaj i-tog genotipa bika

G_j = fiksni uticaj j-te godine uzimanja sperme

S_k = fiksni uticaj k-te sezone uzimanja sperme

THI_l = fiksni uticaj l-te kategorije toplotnog stresa

e_{ijkl} = slučajna greška

- c. Mešoviti model za utvrđivanje repitabiliteta pokazatelja kvaliteta i količine native sperme i sperme nakon zamrzavanja u uslovima toplotnog stresa na početku spermatogeneze i na dan uzimanja semena predstavljen je na sledeći način:

$$Y_{ijkl} = \mu + B_i + G_j + S_k + THI_l + e_{ijkl}$$

U kojem su:

Y_{ijkl} = Posmatrani parametar količine i kvaliteta sperme

μ = opšti prosek

B_i = Slučajni uticaj i-tog genotipa bika oca
 G_j = fiksni uticaj j-te godine uzimanja sperme
 S_k = fiksni uticaj k-te sezone uzimanja sperme
 THI_l = fiksni uticaj l-te kategorije toplotnog stresa
 e_{ijkl} = slučajna greška

Genotip bikova je definisan poreklom, odnosno polubračom po bikovima-očevima, pri čemu je svaki bik-otac morao da ima najmanje tri potomka, a očevi sa manje od tri potomka su svrstani u posebnu grupu. Pošto je svaki potomak imao više skokova tokom istraživanja, izvršena procena repitabiliteta (gornje granice heritabiliteta) i za to je primenjen metod intraklasne korelacije po bikovima-očevima, a repitabilitet (R) je izračunat primenom sledećih formula:

$$\begin{aligned}
 S^2_a &= (S^2_{io} - S^2_{uo}) / k \\
 t &= S^2_a / (S^2_a + S^2_{uo}) \\
 k &= 1 / (T-1) \times (\sum n_i - (\sum n_i^2 / \sum n_i)) \\
 R &= 4 \times (S^2_a / (S^2_a + S^2_{uo})) \\
 SgR &= 4 \times [(2 \times (\sum n_i - 1) \times (1 - t^2)) / (k^2 \times (\sum n_i - T) \times (T - 1))] \times ((\sum n_i - 1) / \sum n_i)]^{(1/2)}
 \end{aligned}$$

u kojima su:

S^2_a = Aditivna genetska varijansa
 t = Koeficijent intraklasne korelacije
 R = repitabilitet
 SgR = greška repitabiliteta
 $\sum n_i$ – ukupan broj posmatranja
 T – broj genetskih grupa
 n_i – broj ponavljanja po svakoj genetskoj grupi
 k – korigovani broj ponavljanja po genetskim grupama kada genetske grupe nemaju isti broj ponavljanja

Značajnost razlika između prosečnih vrednosti pokazatelja kvaliteta i količine native sperme i semena nakon zamrzavanja po ispitvanim uticajima testirana je t-testom, a značajnost ispitvanih uticaja primenom F-testa.

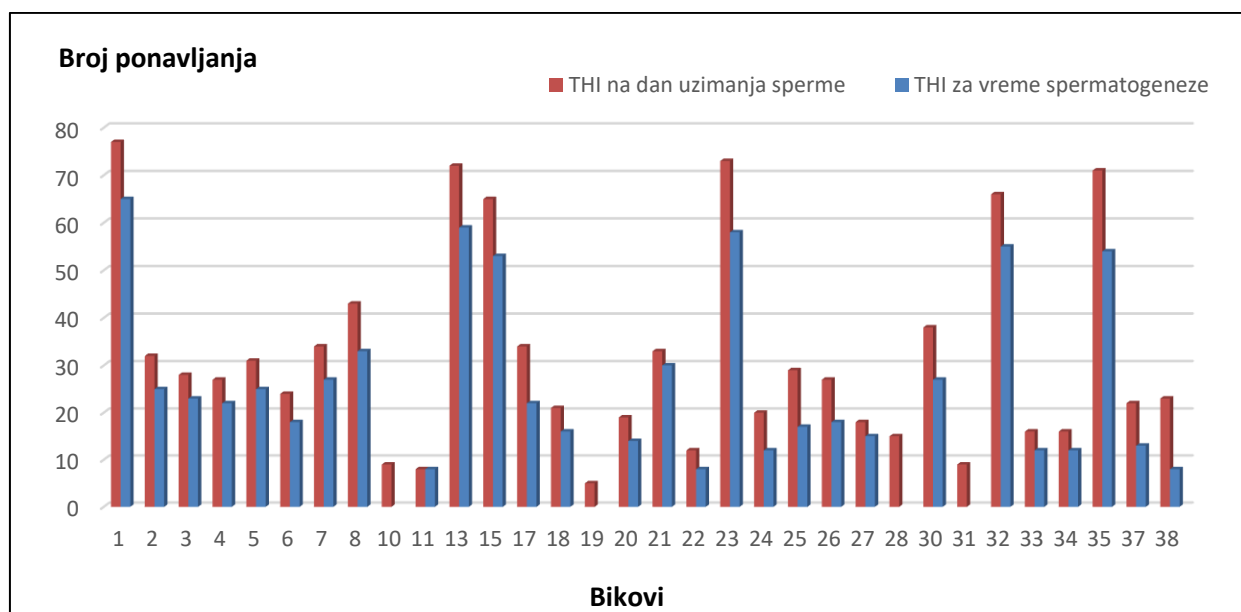
Distribucija bikova po godinama, sezonama, uzrastu bika i po očevima bikova u istraživanju predstavljena je u tabeli 3.

Tabela 3: Distribucija bikova po godinama, sezonama, uzrastu bika i po očevima bikova u istraživanju

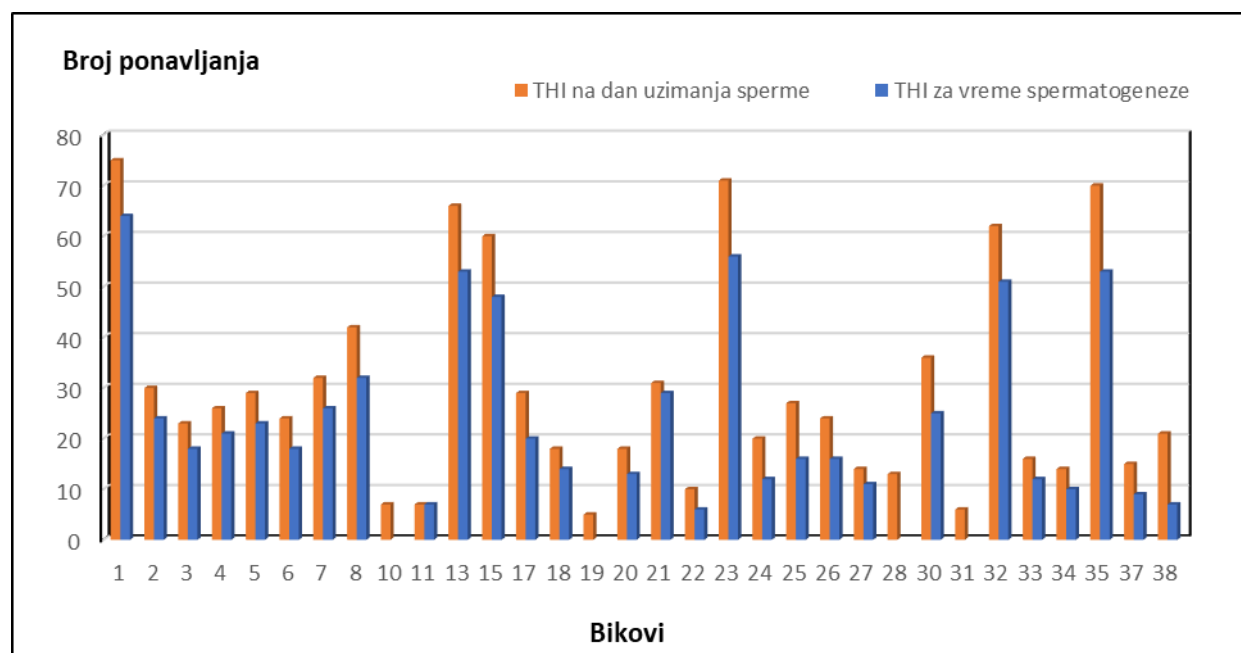
Distribucija bikova po godinama istraživanja											
2017.				2018.				2019.			
31				28				19			
Distribucija bikova po sezonama tokom godinama istraživanja											
2017.				2018.				2019.			
proleće	leto	jesen	zima	proleće	leto	jesen	zima	proleće	leto	jesen	zima
/	23	31	28	28	14	15	27	17	13	/	12

Distribucija bikova po grupama starosti bikova					
<24 mes.		24-36 mes.		>36 mes.	
31		28		19	
Distribucija bikova po očevima					
A	B	C	D	E	F
3	6	7	5	6	5

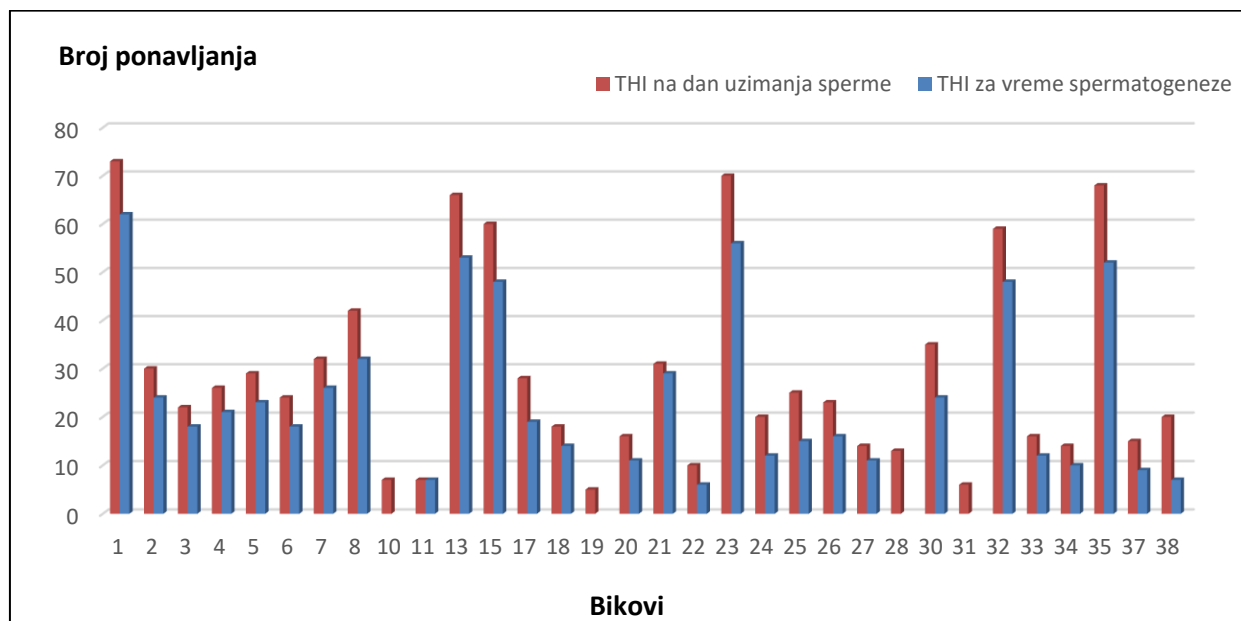
Na grafikonima od broja 1 do broja 7 prikazani su brojevi ponavljanja po bikovima za posmatrane parametre-osobine.



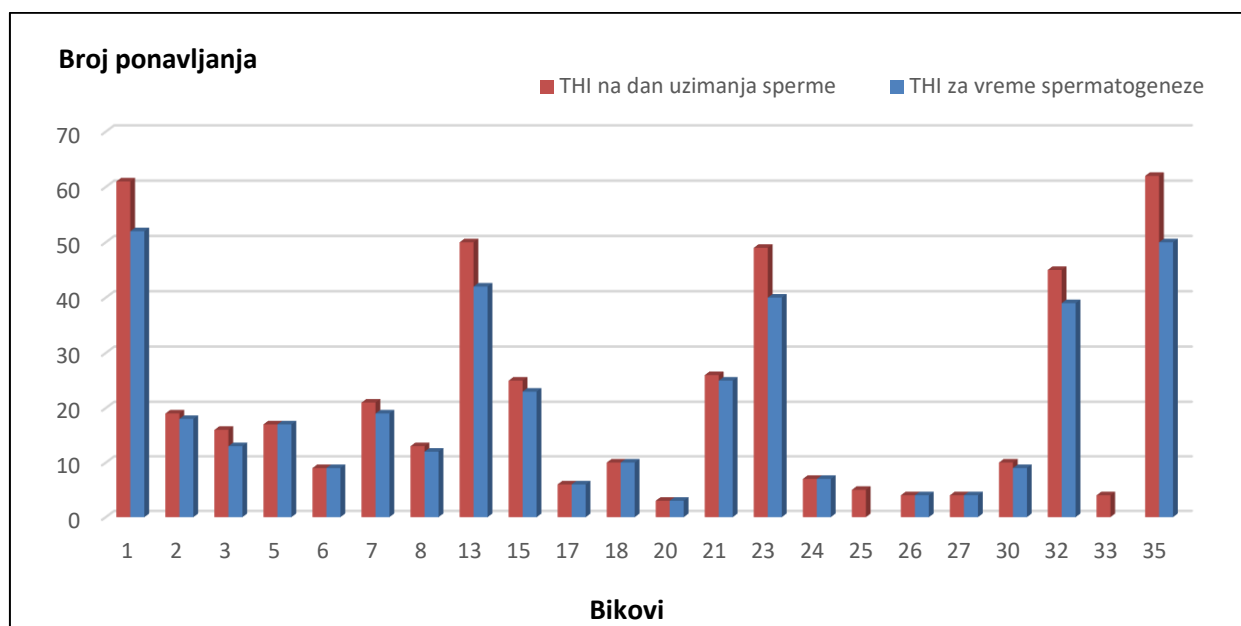
Grafikon 1: Broj ponavljanja po bikovima za parametar KE



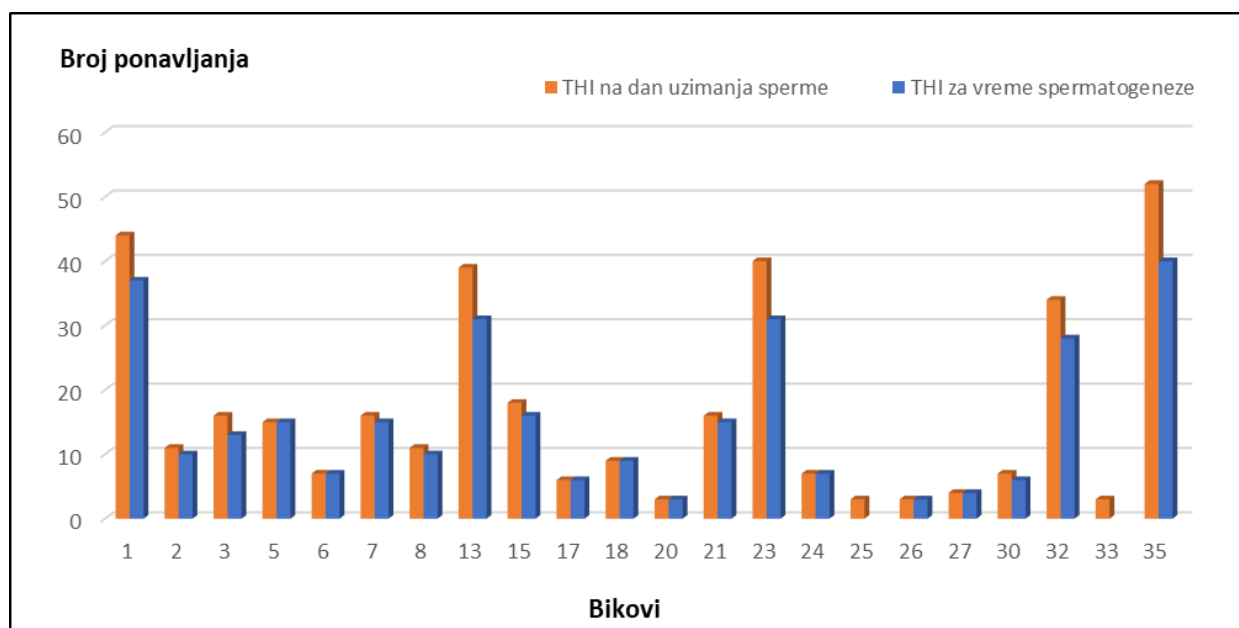
Grafikon 2: Broj ponavljanja po bikovima za parametar GE



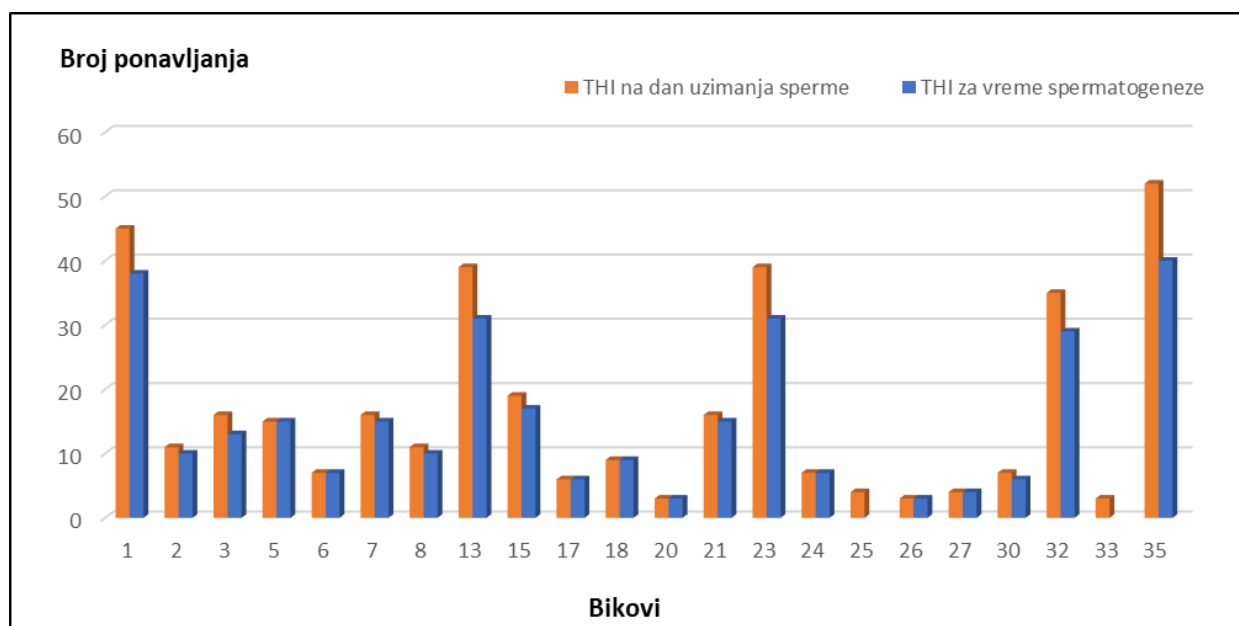
Grafikon 3: Broj ponavljanja po bikovima za parametar PSNS



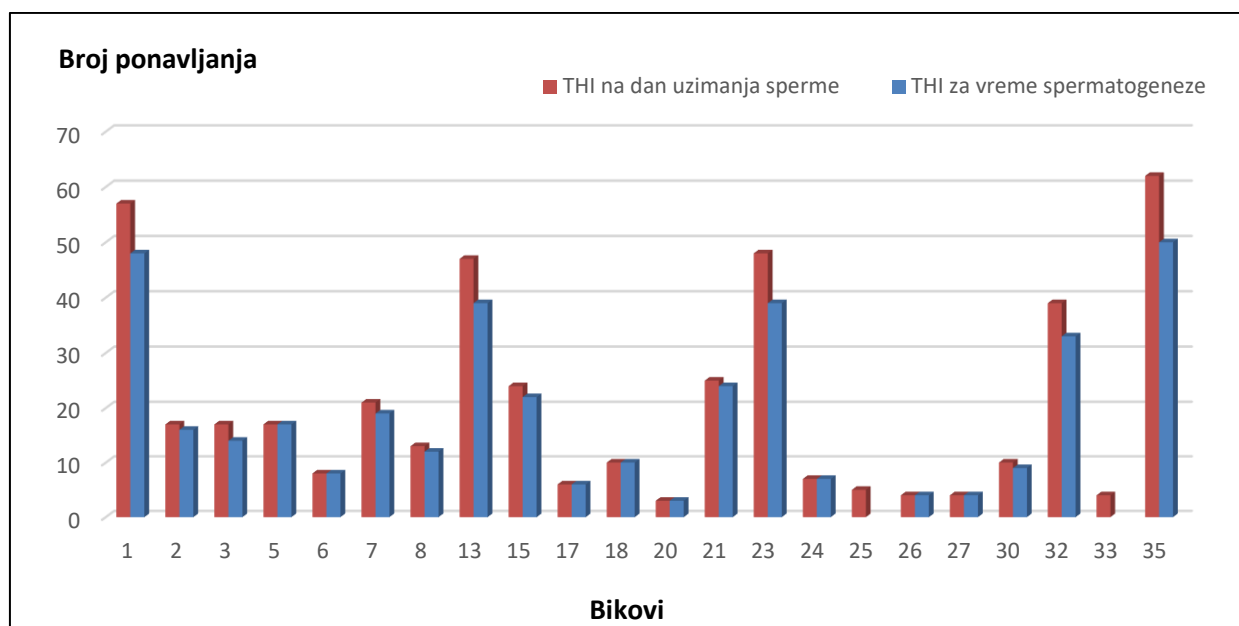
Grafikon 4: Broj ponavljanja po bikovima za parametar RS



Grafikon 5: Broj ponavljanja po bikovima za parametar OSNZ



Grafikon 6: Broj ponavljanja po bikovima za parametar PSNZ



Grafikon 7: Broj ponavljanja po bikovima za parametar BZD

4. REZULTATI I DISKUSIJA

U delu koji sledi predstavljeni su rezultati ispitivanih parametara kvaliteta sperme pre i nakon zamrzavanja bikova holštajn-frizijske rase, kao i analiza dobijenih rezultata. U prvom delu su predstavljene prosečne vrednosti temperature i relativne vlažnosti vazduha, kao i THI. U drugom delu su predstavljene prosečne vrednosti parametara kvaliteta sperme, kada je THI meren na početku spermatogeneze, a zatim prosečne vrednosti parametara kvaliteta sperme, kada je THI meren na dan uzimanja sperme. U trećem delu prikazane su i analizirane vrednosti repitabiliteta i greške repitabiliteta, s obzirom da se radi o osobinama koje se više puta ponavljaju tokom produktivnog života ispitivanih individua.

4. 1. Prosečne vrednosti i varijabilnost temperature, relativne vlažnosti vazduha i THI (toplotno humidni indeks)

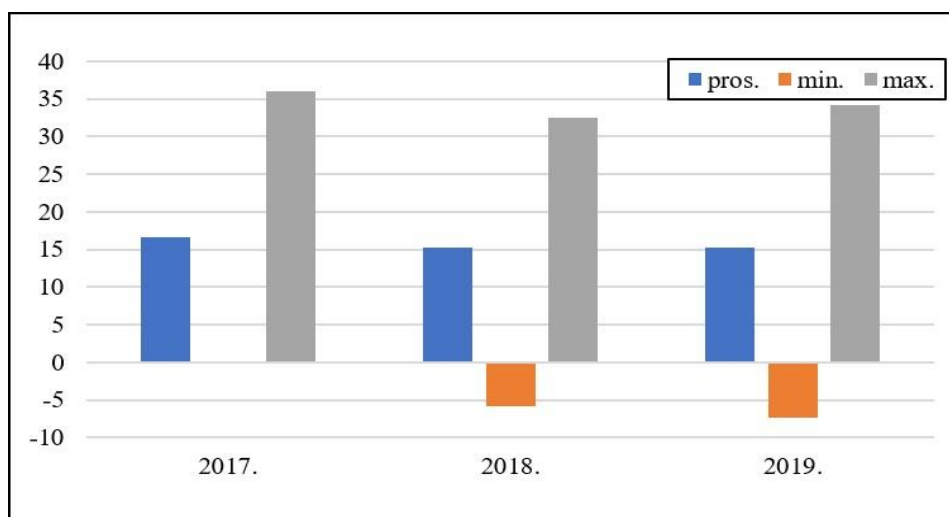
Opšta je procena, a potvrđuje se iz godine u godinu, da će narednih nekoliko decenija doći do značajnih promena klime, pre svega, temperature vazduha. U poslednjih sto godina, prosečna temperatura na Zemlji se povećala za 0,7 °C (National Oceanic and Atmospheric Administration, <https://www.ncdc.noaa.gov/cag/global/time-series>). U nastupajućem periodu očekuje se da će se ovaj trend nastaviti, čak i ubrzati. Kao i čitavu planetu Zemlju, ovaj trend zahvata i Balkansko poluostrvo a samim tim i Srbiju. U našoj zemlji izmerena je za 1,2 °C viša temperatura u periodu od 1996-2015. godine u odnosu na period od 1961-1980. godine (Vuković i sar., 2018). Da bi se dobio uvid u parametre temperature i relativne vlažnosti vazduha, na osnovu kojih su izračunate vrednosti THI, u Tabeli 4 prikazane su prosečne vrednosti ovih parametara po godinama i po sezonama (Tabela 5).

Tabela 4: Prosečne vrednosti i varijabilnost temperature i vlažnosti vazduha po godinama

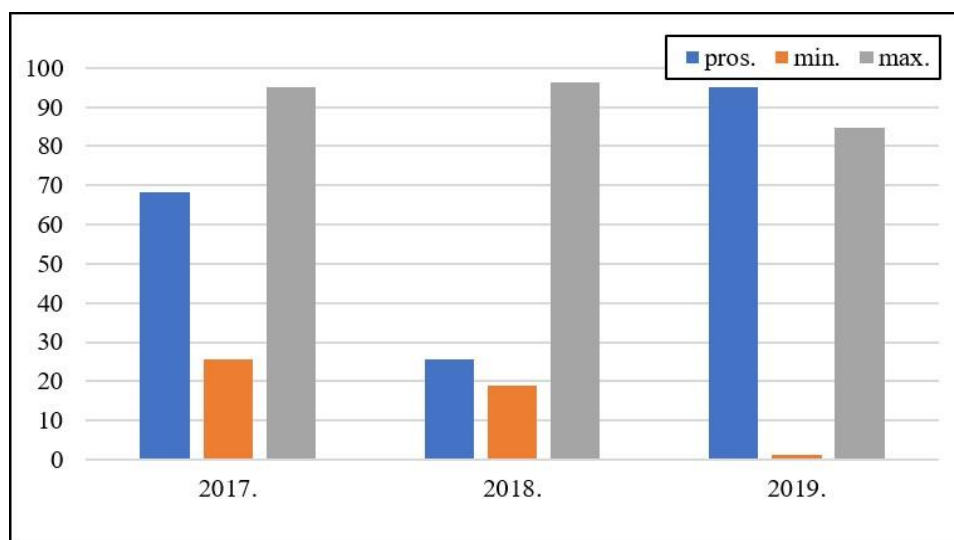
Godina	Temperatura vazduha, °C				Vlažnost vazduha, %			
	n	$\bar{X}$	SD	CV (%)	n	$\bar{X}$	SD	CV (%)
2017	4285	16,62	8,61	51,82	4285	68,24	14,57	21,35
2018	8761	15,25	8,95	58,68	8761	70,88	12,53	17,69
2019	8760	15,19	8,26	54,36	8760	64,95	14,14	21,77
Ukupno	21806	15,5	8,63	55,68	21806	67,98	13,87	21,77

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti;
SD-standardna devijacija; *CV (%)*-koeficijent varijacije (%).

Radi boljeg sagledavanja variranja temperature i relativne vlažnosti vazduha u ispitivanim godinama, ovi parametri su predstavljeni i na grafikonima (Grafikoni 8 i 9), dok su variranja temperature i relativne vlažnosti vazduha po sezonama prikazani na grafikonima 10 i 11. Grafički prikazi omogućavaju lakšu analizu i upoređivanje podataka, što doprinosi boljem razumevanju klimatskih promena tokom posmatranog perioda.



Grafikon 8: Prosečne vrednosti temperature po godinama, °C



Grafikon 9: Prosečne vrednosti relativne vlažnosti vazduha po godinama, %

Kao što je navedeno u Materijalu i metodu rada, podaci o temperaturi i vlažnosti vazduha su ustanovljeni pomoću uređaja za automatsku registraciju mikroklimatskih parametara, logger podataka AMTAST, AMT-116. Merenja su vršena na svakih 60 minuta tokom trajanja istraživanja. Broj podataka po godinama je iznosio 4285, 8761 i 8760 za 2017., 2018. i 2019. godinu respektivno. Prosečna temperatura za ceo period istraživanja je iznosila $15,5 \pm 8,63$ °C (prosek $\pm$ SD). Najviša prosečna temperatura je zabeležena u 2017. godini $16,62 \pm 8,61$ °C, a najniža u 2019. godini $15,19 \pm 8,26$ °C.

Prosečna relativna vlažnost vazduha u procentima je iznosila $67,98 \pm 13,87$ %. Najviša zabeležena relativna vlažnost vazduha ustanovljena je u 2018. godini $70,88 \pm 12,53$ %, a najniža u 2019. godini $64,95 \pm 14,14$ %.

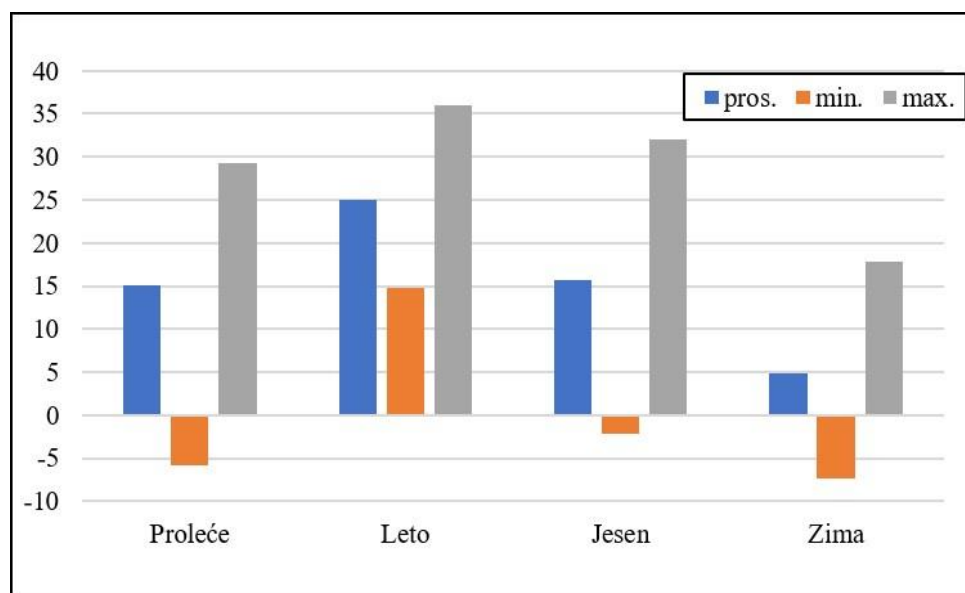
Tabela 5: Prosečne vrednosti i varijabilnost temperature i vlažnosti vazduha po sezonama

Sezona	Temperatura vazduha, °C				Vlažnost vazduha, %			
	n	$\bar{X}$	SD	CV (%)	n	$\bar{X}$	SD	CV (%)
Proleće	4414	15,09	6,23	41,28	4414	67,10	13,64	20,33
Leto	5774	25,02	3,75	15,00	5774	65,91	13,06	19,81
Jesen	6555	15,64	5,64	36,05	6555	67,10	12,94	19,28
Zima	5063	4,81	3,44	71,53	5063	72,24	15,17	20,99
Ukupno	21806	15,50	8,63	55,68	21806	67,98	13,87	21,77

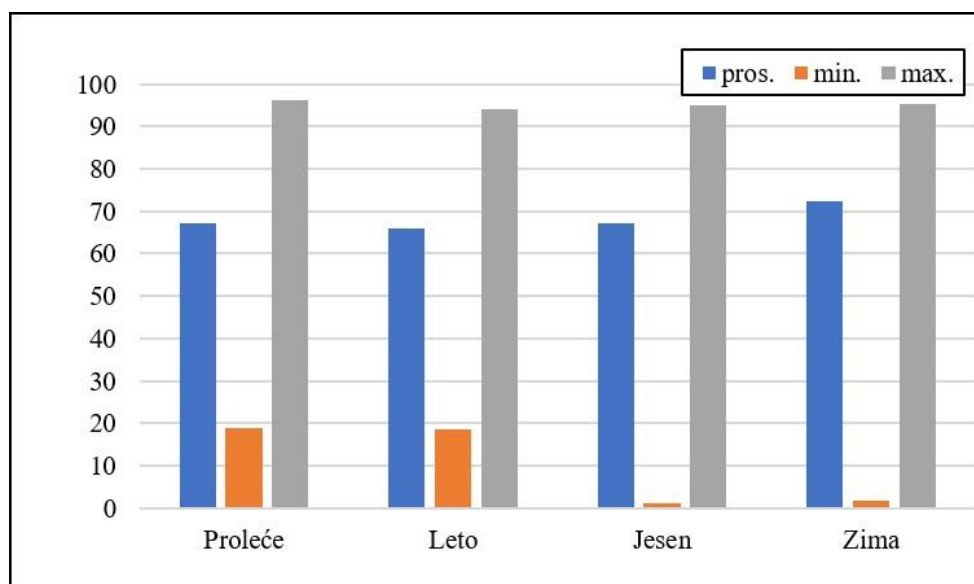
n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti;
SD-standardna devijacija; *CV (%)*-koeficijent varijacije (%).

Prosečne vrednosti temperature vazduha po sezonama su varirale u intervalu od $4,81 \pm 3,44$ °C u zimskoj sezoni do $25,02 \pm 3,75$ °C u letnjoj sezoni. Podaci o relativnoj vlažnosti vazduha pokazali su manje variranje u odnosu na temperaturu vazduha, naviša prosečna relativna vlažnost vazduha bila je u zimskoj sezoni $72,24 \pm 15,17$ %, a najmanja u letnjoj sezoni $65,91 \pm 13,06$ % (Tabela 5).

Kako bi se procenio uticaj temperature ambijenata neophodno je izvršiti istovremeno merenje temperature vazduha i vlažnosti vazduha. Ukoliko se za ovu procenu koristi THI, vrednost THI od 72, odgovara temperaturi vazduha od 22 °C i relativnoj vlažnosti vazduha od 100%, temperaturi od 25 °C i relativnoj vlažnosti vazduha od 50% ili temperaturi vazduha od 28 °C i relativnoj vlažnosti od 20% (Gantner i sar., 2011).



Grafikon 10: Prosečne vrednosti temperature po sezonama, °C



Grafikon 11: Prosečne vrednosti relativne vlažnosti vazduha po sezonama, %

Prosečne vrednosti i varijabilnost THI posmatrano po godinama i sezonama, prikazane su na početku spermatogeneze (Tabela 6) i na dan uzimanja sperme (Tabela 7).

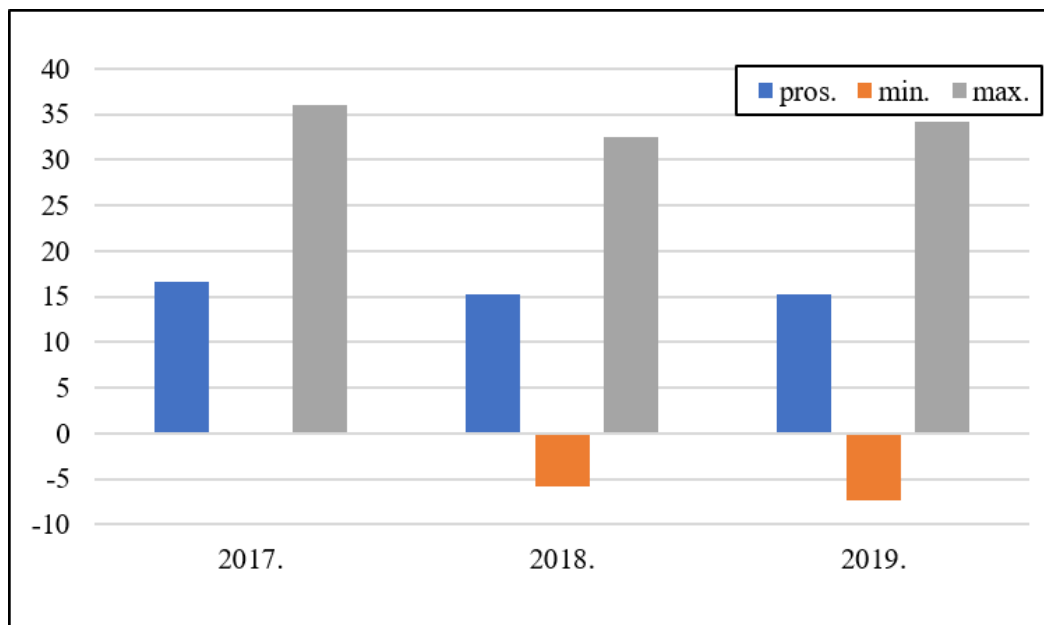
Tabela 6: Prosečne vrednosti i varijabilnost temperaturno humidnog indeksa (THI) merenog na početku spermatogeneze posmatrano po godinama i sezonama

Godina / sezona	THI na početku spermatogeneze			
	n	$\bar{X}$	SD	CV (%)
Godina				
2017	179	49,16	4,79	9,75
2018	429	48,47	11,67	24,08
2019	141	59,75	8,60	14,40
Sezona				
Proleće	255	55,85	10,28	18,41
Leto	36	75,32	4,74	6,29
Jesen	144	52,23	4,39	8,41
Zima	314	43,13	5,52	12,80
Ukupno	749	50,76	10,77	21,20

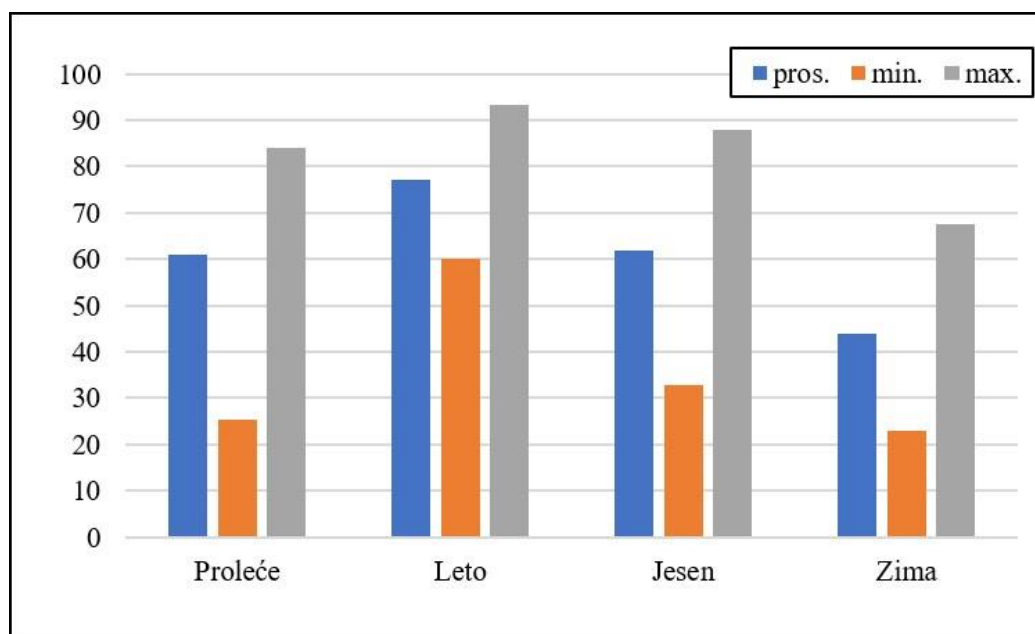
n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%) -koeficijent varijacije (%).

Na kvalitet sperme ne utiče samo temperatura okoline u vreme uzimanja sperme, već i tokom sazrevanja sperme u epidermisu i tokom spermatogeneze. Proces spermatogeneze počinje oko 70 dana pre prikupljanja sperme (Ball i Peters, 2004). Prosečna vrednosti THI na početku spermatogeneze iznosila je $50,76 \pm 10,77$. Očekivano, najviše vrednosti THI ustanovljene su tokom leta $75,32 \pm 4,74$, a najmanje zimi $43,13 \pm 5,52$. Godine 2017 i 2018 su imale slične

vrednosti THI evidentiranog na početku spermatogeneze, prosečno $49,16 \pm 4,79$ i $48,47 \pm 11,67$, dok je THI u 2019. godini bio nešto viši, u ovoj godini je evidentirana prosečna vrednost THI od $59,75 \pm 8,60$ (Tabela 6).



Grafikon 12: Prosečne vrednosti temperaturno humidnog indeksa (THI) merenog na početku spermatogeneze posmatrano po godinama



Grafikon 13: Prosečne vrednosti temperaturno humidnog indeksa (THI) merenog na dan uzimanja sperme, posmatrano po godinama

Prosečne vrednosti THI merenog na početku spermatogeneze posmatrano po godinama prikazane su i na grafikonu 12, dok su prosečne vrednosti THI merene na dan uzimanja sperme posmatrano po godinama prikazane na grafikonu 13.

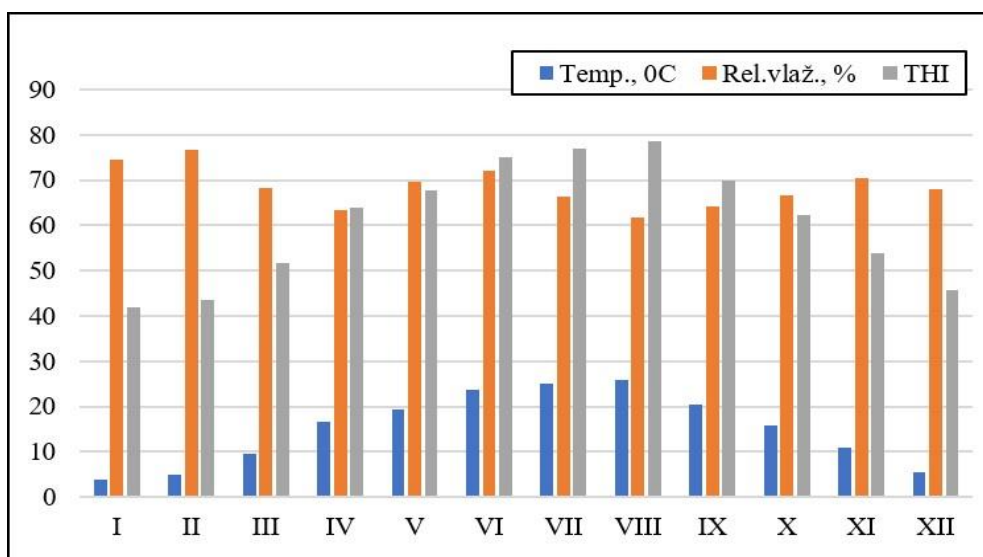
Tabela 7: Prosečne vrednosti i varijabilnost temperaturno humidnog indeksa (THI) merenog na dan uzimanja sperme posmatrano po godinama i sezonama

Godina / sezona	THI na dan uzimanja sperme			
	n	$\bar{X}$	SD	CV (%)
Godina				
2017	446	58,45	9,50	16,25
2018	430	48,50	11,67	24,06
2019	141	59,75	8,60	14,40
Sezona				
Proleće	256	55,87	10,26	18,37
Leto	60	74,61	3,76	5,03
Jesen	386	59,55	7,67	12,89
Zima	315	43,12	5,51	12,79
Ukupno	1017	54,42	11,54	21,20

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%)-koeficijent varijacije (%).

Prosečna vrednost THI na dan uzimanja sperme u ovom istraživanju bila je $54,42 \pm 11,54$. Slično kao i kod prosečnih vrednosti na početku spermatogeneze, najviše vrednosti su zabeležene u letnjoj sezoni $74,61 \pm 3,76$, a najniže zimi $43,12 \pm 5,51$. Kada posmatramo prosečne vrednosti THI na dan uzimanja sperme po godinama, uočava se da su 2017 i 2019 imale slične prosečne vrednosti THI, $58,45 \pm 9,50$ i $59,75 \pm 8,60$, dok je u 2018 godini THI bio niži i imao je prosečnu vrednosti od $48,50 \pm 11,67$ (Tabela 7).

Većina autora smatra da temperaturni stres počinje sa $THI \geq 72$ (Bohmanova i sar., 2007; Brouček i sar., 2009; Thatcher i sar., 2010). Kao što je već naglašeno, THI zavisi od temperature vazduha i relativne vlažnosti vazduha, te se kritična vrednost THI može dobiti i pri nižim temperaturama ako je visoka vlažnost (Dunn i sar., 2014). Neki autori smatraju da, zapravo, $THI=68$ predstavlja početak pojave temperaturnog stresa (Segnalini i sar., 2011.; Carter i sar., 2011. i Carabano i sar., 2014).



Grafikon 14: Prosečne vrednosti teperature, relativne vlažnosti vazduha i temperaturno humidnog indeksa (THI) merenog na dan uzimanja sperme posmatrano po mesecima

Na Grafikonu 14 uporedno su predstavljene prosečne vrednosti temperature, relativne vlažnosti vazduha i THI merenog na dan uzimanja sperme, posmatrano po mesecima. Indeks toplotnog stresa (THI) u period od 2017. do 2019. godine ukazivao je na postojanje toplotnog stresa tokom meseca maja, juna, jula, avgusta i septembra. Dinamika promene THI, u našem istraživanju, bez obzira na formulu koja je korišćena, slična je sa kao u istraživanju Spasojević i sar. (2023) na teritoriji vojvodine. Uzimajući u obzir temperaturne oscilacije u Srbiji u protekloj deceniji, jasno je da su prisutni veoma povoljni uslovi za razvoj toplotnog stresa kod goveda (Cincović i sar., 2023).

Pored povećanja prosečnih temperatura, maksimalna izmerena temperatura i povećanje temperaturnih odstupanja ukazuju na značajan problem sa toplotnim stresom. Veoma važan problem koji uzrokuje toplotni stres jeste razvoj toplotnih talasa. Toplotni talasi predstavljaju velike anomalije u temperaturi okoline tako da temperature odstupa za više od 5 stepeni u odnosu na višedecenijski prosek. Broj i trajanje toplotnih talasa se povećavaju sa globalnim zagrevanjem (Guo i sar., 2017).

4. 2. 1. Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na početku spermatogeneze

Tokom tri godine istraživanja, kada je THI meren na početku spermatogeneze, od 28 bikova uzeto je 749 ejakulata, čija je prosečna KE bila $5,33 \pm 2,18$ ml. Od ukupnog broja ejakulata prvu proveru, GE je prošao 694 uzorak i u njima je u proseku bilo $1486,14 \pm 669,62 \times 10^6$ /ml spermatozoida. Na 683 ispitivana uzoraka utvrđeno je da je prosečna ocena PSNS iznosila $3,42 \pm 0,83$. Na dalji postupak razređenja sperme je prošlo 402 uzoraka, gde je prosečno RS iznosilo $1:19,76 \pm 3,49$.

Tabela 8: Prosečne vrednosti i varijabilnotst pokazatelja količine i kvaliteta nativne sperme i značajnost ispitivanih uticaja (p-vrednost) kada je THI meren na početku spermatogeneze

Pokazatelj	n	$\bar{X}$	SD	CV (%)	p-vrednost			
					Godina	Sezona	Starost bika	Toplotni stres
KE	749	5,33	2,18	40,95	0,002**	0,037*	0,000**	0,345
GE	694	1486,14	669,62	45,06	0,989	0,298	0,147	0,020*
PSNS	683	3,42	0,83	24,29	0,088	0,810	0,001**	0,013*
RS	402	19,76	3,49	17,64	0,000**	0,016*	0,151	0,036*

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%) -koeficijent varijacije (%); ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); KE-količina ejakulata; GE-gustina ejakulata; PSNS-pokretljivost spermatozoida nativne sperme; RS-razređenje sperme.

Jačina temperaturnog stresa merena 60 dana pre uzimanja sperme (aproksimirano kao početak spermatogeneze) nije imala statistički značajan uticaj ($p > 0,05$) na KE (Tabela 8). Što se može, delimično, objasniti činjenicom da su se u letnjem periodu proizvodile manje količine sperme i da je u tom periodu uzimana sperma od onih bikova koji su manje bili podložni temperaturnom stresu, a to su uglavnom bili bikovi koji su bili duže u eksploataciji, odnosno stariji bikovi.

Ustanovljen je značajan uticaj ($p < 0,05$) temperaturnog stresa na početku spermatogeneze na GE (Tabela 8). U skladu sa rezultatima većine autora, najmanja GE, kada je THI meren na početku spermatogeneze, ustanovljena u uslovima visokog temperaturnog stresa. Slične vrednosti GE su u svojim istraživanjima ustanovili Bhavani i sar. (2020) i Prathap i sar. (2017), a niže vrednosti Chikhaliya i sar. (2018), kao i Paldusova i sar. (2014).

Nažalost, u Centru za reprodukciju i transfer embriona, nisu rađene analize morfologije spermatozoida i pokretljivosti spermatozoida, već je ispitivana samo gruba pokretljivost - PSNS na koju je značajno ($p < 0,05$) uticao THI meren na početku spermatogeneze (Tabela 8) THI meren na početku spermatogeneze, što je u skladu sa istraživanjima Capela i sar. (2022).

Na RS, temperaturni stres na početku spermatogeneze imao je značajan uticaj ($p < 0,05$). Važnu ulogu u održavanju normalne spermatogeneze imaju znojne žlezde skrotalne kese, njena glatka muskulatura i skrotalni i testikularni krvotok (Morell, 2020; Wettemann and Boehmer, 2014. i Thundathil i sar., 2012). U suprotnom, narušava se spermatogeneza, što dovodi do narušavanja plodnosti i steriliteta. U svom istraživanju na miševima Kasteic i sar. (2019) su ustanovili da je hipertermija (stanje kod koga telesna temperatura raste iznad normalnih vrednosti) sama po sebi uzrok toplotnih efekata na spermu, a da hipooksija (stanje snižene koncentracije kiseonika u ćelijama i tkivima) bitno ne uvećava njen uticaj, nitii se hiperoksijom ublažuje. Većina autora smatra da toplotni stres deluje na količinu i na kvalitet sperme, spermatogenezu, maturaciju spermatozoida, ali i na sposobnost zamrzavanja i kvalitet semena posle zamrzavanja (Garcia-Oliveros i sar., 2022), uspešnost oplodnje (Liamas-Luceno i sar., 2020. i Rahman i sar., 2013), kao i na rani razvoj embriona (Luceno i sar., 2020).

U početnoj fazi spermatogeneze, nakon delovanja temperaturnog stresa, javljaju se promene na glavi spermatozoida i menja se potencijal mitohondrijalne membrane. Kasnije se smanjuje pokretljivost spermatozoida, povećava se broj abnormalnih spermatozoida i

defragmentacija DNA. Oporavak se uočava 10-11 nedelja od delovanja temperaturnog stresa (Garcia-Oliveros i sar., 2022; Capela i sar., 2022; Luceno i sar., 2020).

Uticaj godine, kada je THI meren na početku spermatogeneze, imao je statistički veoma značajan uticaj ($p < 0,01$) na KE i RS, dok nije bio statistički značajan na GE i PSNS ($p > 0,05$) (Tabela 8). Slične efekte na GE ustanovili su i Seií-Jamadi i sar. (2019), Das i sar. (2017) i Wattermann i Boehmer. (2014).

Sezona u ovom istraživanju, kada je THI meren na početku spermatogeneze, nije imala statistički značajan uticaj na parametre kvaliteta native sperme, osim na KE i RS na koje je uticala značajno ($p < 0,05$) (Tabela 8).

Sezone se tokom godine razlikuju u zavisnosti od klimata, ali uvek su povezane sa atmosferskim temperaturama, količinama padavina, vlažnošću vazduha i dužinom foto perioda i kao takve utiču na proizvodnju sperme bikova (Morell, 2020).

U našem istraživanju gustina ejakulata (GE) i pokretljivost native sperme (PSNS) nisu bile značajno povezane sa sezonom, što nije u skladu sa nalazima mnogih studija koje ukazuju na smanjenje kvaliteta sperme u toplijim mesecima (Burren i sar., 2019, Morell, 2020)

Zapravo, uticaj sezone je manje precizan metod, u odnosu na uticaj THI, kada se ispituje kvalitet native sperme i proizvodnja spermatozoida tokom spermatogeneze. THI je direktna i kvantitativna mera toplotnog stresa, dok je sezona kategorijalna i opšta. U ovoj studiji, THI je pokazao značajan uticaj na GE, PSNS i RS, što sugerise da je realan fiziološki stres bolje opisuje THI nego sezona. U istraživanjima, u tropskim i subtropskim uslovima, sezone se uglavnom dele na letnju, zimsku i sezonu kiša, a u umereno kontinentalnim uslovima na proleće, leto, jesen i zimu.

Visoko značajan uticaj ($p < 0,01$) uzrasta bikova, kada je THI meren na početku spermatogeneze utvrđen je kod KE i PSNS, dok nije bio značajan ($p > 0,05$) na GE i RS (Tabela 8).

Uzrast bikova, takođe, utiče na spermatogenezu i kvalitet i količinu proizvedenog semena. Prema Morell, (2020), kao i Majić Balić i sar. (2012), mladi bikovi su podložniji temperaturnom stresu u odnosu na starije. Ipak na kvalitet sperme, uticaj temperaturnog stresa je izraženiji kod starijih bikova, koji imaju slabiji kvalitet sperme nakon zamrzavanja (Liamas-Luceño i sar., 2020). Prema istraživanjima Paldusove i sar. (2014), stariji bikovi imali su značajno veću ($p < 0,01$) količinu ejakulata i najmanju koncentraciju spermatozoida u odnosu na mlađe. Sličan trend su ustanovili za količinu ejakulata i Bhave i sar. (2020), Snoja i sar. (2013), kao i Majić Balic i sar. (2012), uz napomenu da razlike u ukupnom broju spermatozoida i progresivnoj pokretljivosti nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$).

U ovom istraživanju najveća količina ejakulata je ustanovljena kod starijih bikova, uzrasta 3-5 godina, što je u saglasnosti i sa rezultatima Ahmad i sar. (2003).

Tabela 9: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta native sperme posmatrano po godinama kada je THI meren na početku spermatogeneze

Pokazatelj	Godina			
		2017	2018	2019
KE	n	179	429	141
	$\bar{X}$	5,05	5,26	5,88
	SD	1,95	2,10	2,58
	CV (%)	38,70	39,97	43,79
GE	n	173	396	125
	$\bar{X}$	1326,30	1525,20	1583,60
	SD	725,76	601,27	757,32
	CV (%)	54,72	39,42	47,82
PSNS	n	168	392	123
	$\bar{X}$	3,17	3,45	3,67
	SD	0,89	0,81	0,70
	CV (%)	28,22	23,61	19,02
RS	n	72	238	92
	$\bar{X}$	20,24	20,06	18,60
	SD	3,12	3,68	2,98
	CV (%)	15,39	18,35	16,02

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%) -koeficijent varijacije (%); KE-količina ejakulata; GE-gustina ejakulata; PSNS-pokretljivost spermatozoida native sperme; RS-razređenje sperme.

Najviše prosečne vrednosti za KE ($5,88 \pm 2,58$ ml), GE ($1583,60 \pm 757,32 \times 10^6/\text{ml}$) i PSNS ($3,67 \pm 0,70$) su bile u 2019. godini, odnosno u godini kada su ustanovljene i najniže prosečne temperature vazduha i najmanja vlažnost vazduha (Tabela 9). Kada je u pitanju RS, najveća vrednost je ustanovljena u 2017. godini i iznosila je 1: 20,24.

Primenom Studentovog t-testa ustanovljeno je da su se 2017 i 2019 godina, kao i 2018 i 2019 veoma značajno razlikovale ($p < 0,01$) kada je u pitanju KE i RS, dok za ove parametre nisu ustanovljene značajne razlike ($p > 0,05$) između 2017 i 2018 godine (Tabela 10).

Tabela 10: Razlike između godina primenom Studentovog t-testa za KE i RS kada je THI meren na početku spermatogeneze

KE			RS		
Godina	t-vrednost		Godina	t-vrednost	
	2018	2019		2018	2019
2017	1,18 ^{NS}	3,17**	2017	0,41 ^{NS}	3,41**
2018		2,59**	2018		3,73**

KE-količina ejakulata; RS-razređenje sperme. ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); ^{NS} – statistički nema značajnosti.

Tabela 11: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja posmatrano po sezonama kada je THI meren na početku spermatogeneze

Pokazatelj	Sezona				
		Proleće	Leto	Jesen	Zima
KE	n	256	36	144	314
	$\bar{X}$	5,54	4,9	5,35	5,18
	SD	2,26	2,22	1,96	2,21
	CV (%)	40,8	45,4	36,66	42,65
GE	n	240	29	127	298
	$\bar{X}$	1589,58	1482,76	1312,99	1476,95
	SD	637,25	615,9	746,98	652,24
	CV (%)	40,09	41,54	56,89	44,16
PSNS	n	239	29	121	294
	$\bar{X}$	3,52	3,52	3,11	3,45
	SD	0,79	0,83	0,92	0,79
	CV (%)	22,51	23,57	29,61	23,02
RS	n	167	18	51	166
	$\bar{X}$	19,8	20	20,14	19,57
	SD	3,69	3,51	3,17	3,39
	CV (%)	18,61	17,57	15,74	17,29

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; *SD*-standardna devijacija; *CV* (%) -koeficijent varijacije (%); *KE*-količina ejakulata; *GE*-gustina ejakulata; *PSNS*-pokretljivost spermatozoida native sperme; *RS*-razređenje sperme.

U ovom istraživanju sezona nije značajno uticala na parametre kvaliteta native sperme kada je THI meren na početku spermatogeneze ($p > 0,05$), osim na parametar RS, na koji je sezona uticala značajno ($p < 0,05$). Ipak, najmanje prosečne vrednosti za KE ($4,90 \pm 2,22$ ml), GE ($1312,99 \pm 746,98 \times 10^6/\text{ml}$) i PSNS ($3,11 \pm 0,92$) pre zamrzavanja su ustanovljene tokom leta i jeseni (Tabela 11), što nam ukazuje na efekat prenošenja tj. da toplotni stres koji ispoljen tokom leta može uticati na grla u periodu jeseni (Herbut i Angrecka, 2018).

Proučavajući kvalitet nativnih ejakulata tri bika različitih rasa, Dharni i sar. (2021) nisu ustanovili značajan ($p > 0,05$) uticaj sezone, iako su najveća količina ejakulata i broj abnormalnih spermatozoida ustanovljeni u sezoni monsuna. Prema Bhavani i sar. (2020), bikovi rase gir su najbolje rezultate u proizvodnji sperme ostvarili tokom leta i to se tumači boljom spermatogenezom koja se odvijala u vreme nižih atmosferskih temperatura. Za razliku od njih, bikovi iste rase, prema istraživanjima Das i sar. (2017), najbolje rezultate kvaliteta native sperme su imali tokom zime (količina ejakulata, gustina i pokretljivost spermatozoida), ali i najmanju pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja.

Primenom Studentovog *t* testa ustanovljeno je da su se jedino sezone proleće i zima značajno razlikovale ($p < 0,05$) kad je u pitanju KE (Tabela 12). Međutim primenom modela analize varijanse uticaj sezone bio je značajan na RS, dok primenom Studentovog *t*-testa te razlike nisu potvrđene. Zbog pouzdanosti ocene razlika između dve prosečne vrednosti, kada imamo

poznate standardne devijacije i broj ponavljanja, smatra se da je korektnije tumačenje razlika primenom Studentovog t-testa.

Tabela 12: Razlike između sezona primenom Studentov t-testa za KE i RS kada je THI meren na početku spermatogeneze

KE				RS			
Sezona	t-vrednost			Sezona	t-vrednost		
	leto	jesen	zima		leto	jesen	zima
proleće	1,62 ^{NS}	0,88 ^{NS}	1,91*	proleće	0,23 ^{NS}	0,64 ^{NS}	0,59 ^{NS}
leto		1,11 ^{NS}	0,72 ^{NS}	leto		0,15 ^{NS}	0,5 ^{NS}
jesen			0,83 ^{NS}	jesen			1,1 ^{NS}

KE-količina ejakulata; RS-razređenje sperme; * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); ^{NS} – statistički nema značajnosti

U brojnim studijama koje su posvećene istraživanju uticaja sezone na kvalitet sperme bikova pre zamrzavanja, primećene su značajne razlike i protivrečnosti u pogledu uticaja sezone na proizvodnju i kvalitet sperme bikova. Studije (Mathevon i sar., 1998; McDowell, 1972; Prathap i sar., 2017) pokazale su značajan uticaj sezone na proizvodnju i kvalitet native sperme, dok neke druge studije, slično rezultatima u ovom istraživanju, nisu otkrile bilo kakav uticaj sezone na proizvodnju sperme (Brito i sar., 2002; Vaneanu i sar., 2015).

U ovom istraživanju, najviše prosečne vrednosti pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja, posmatrano kada je THI meren na početku spermatogeneze, ustanovljene su kod starijih bikova (preko 36 meseci starosti). Za KE ustanovljena je prosečna vrednost od $5,83 \pm 2,36$ ml, GE ($1554,69 \pm 585,68$ 10⁶/ml), PSNS ($3,56 \pm 0,72$) i za RS 1: ($20,00 \pm 3,30$) što je predstavljeno u Tabeli 13.

Tabela 13: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja posmatrano prema starosti bika kada je THI meren na početku spermatogeneze

Pokazatelj	Starost bika, mes.			
		<24	24-36	>36
KE	n	223	247	279
	$\bar{X}$	5,34	4,75	5,83
	SD	1,98	2,01	2,36
	CV (%)	37,07	42,28	40,45
GE	n	210	222	262
	$\bar{X}$	1464,52	1425,68	1554,69
	SD	653,84	766,12	585,68
	CV (%)	44,65	53,74	37,67
PSNS	n	208	215	260
	$\bar{X}$	3,41	3,25	3,56
	SD	0,87	0,88	0,72
	CV (%)	120,93	109,43	81,60
RS	n	132	97	173
	$\bar{X}$	19,33	19,92	20,00
	SD	3,63	3,58	3,30
	CV (%)	18,80	17,97	16,51

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; *SD*-standardna devijacija; *CV (%)*-koeficijent varijacije (%); *KE*-količina ejakulata; *GE*-gustina ejakulata; *PSNS*-pokretljivost spermatozoida native sperme; *RS*-razređenje sperme.

Slične vrednosti *KE* kod mladih bikova od prosečno 5,45 ml ustanovili su Mathevon i sar. (1998), dok su *KE* kod starijih bikova bile nešto veće (6,73 ml). Najveću *KE*, slično dobijenim rezultatima u ovom istraživanju, ustanovili su Marinković i sar. (2020) kod bikova starih oko 4 godine i ona je iznosila 5,8 ml. Povećanje količine ejakulata sa povećanjem starosti bikova utvrdili su i Prastowo i sar. (2019). Takođe, u predhodno navedenom istraživanju uticaj starosti na količinu ejakulata bio je značajan ($p < 0,05$).

Primenom Studentovog *t*-testa ustanovljeno je da su se vrednosti *KE* veoma značajno razlikovale ($p < 0,01$) za sve kategorije starosti bikova, Istovremeno, utvrđene su značajne razlike ($p < 0,05$) između kategorija mlađih i srednjih bikova, kao i između mlađih i starih bikova, a veoma značajno ($p < 0,01$) između srednjih i starih bikova (Tabela 14).

Tabela 14: Vrednosti Studentovog - t testa za KE i PSNS kada je THI meren na početku spermatogeneze

KE			PSNS		
Starost bika	t-vrednost		Starost bika	t-vrednost	
	Srednji	Stari		Srednji	Stari
Mlađi	3,2 **	2,53 **	Mlađi	1,88 *	2 *
Srednji		5,67 **	Srednji		4,14 **

KE-količina ejakulata; PSNS-pokretljivost spermatozoida native sperme; ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$).

Prastowo i sar. (2019) ustanovili su nešto niže vrednosti GE u odnosu na ovo istraživanje od $1036,26 \times 10^6/\text{ml}$ za mlade bikove i $1113,32 \times 10^6/\text{ml}$ za stare bikove. Suprotno ovom istraživanju u prethodno navedenom istraživanju starost bikova uticala je značajno na gustinu ejakulata ($p < 0,05$).

Marinković i sar. (2020) su ustanovili niže vrednosti za GE u odnosu na ovo istraživanje, koncentracija spermatozoida se u njihovom istraživanju prosečno je iznosila 1092.1, 1076.7 i $997.9 \times 10^6/\text{ml}$ za bikove stare 2, 4 i 6 godina, respektivno.

Tabela 15: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja posmatrano prema kategoriji toplotnog stresa kada je THI meren na početku spermatogeneze

Pokazatelj	Kategorija toplotnog stresa					
		THI1	THI2	THI3	THI4	THI5
KE	n	106	268	140	175	60
	$\bar{X}$	5,38	5,37	4,89	5,48	5,61
	SD	1,97	2,23	1,91	2,40	2,16
	CV (%)	36,63	41,52	39,00	43,88	38,57
GE	n	101	258	120	156	59
	$\bar{X}$	1560,89	1526,74	1357,92	1588,65	1170,34
	SD	536,17	641,47	743,18	687,12	680,27
	CV (%)	34,35	42,02	54,73	43,25	58,13
PSNS	n	101	256	118	154	54
	$\bar{X}$	3,62	3,45	3,25	3,55	2,91
	SD	0,71	0,81	0,87	0,77	0,96
	CV (%)	19,46	23,65	26,70	21,65	32,91
RS	n	75	150	55	105	17
	$\bar{X}$	19,07	19,90	20,04	19,63	21,47
	SD	3,40	3,69	3,21	3,42	2,65
	CV (%)	17,84	18,56	16,01	17,44	12,34

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; *SD*-standardna devijacija; *CV* (%)-koeficijent varijacije (%); *KE*-količina ejakulata; *GE*-gustina ejakulata; *PSNS*-pokretljivost spermatozoida native sperme; *RS*-razređenje sperme; *THI1* – bez stresa; *THI2* – blagi stres; *THI3* – umereni stres; *THI4* – jak stres; *THI5* – veoma jak stres.

Kategorija toplotnog stresa, kada je *THI* meren na početku spermatogeneze, pokazala je značajan uticaj ($p < 0,05$) na sve osobine količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja, osim za *KE*. U ovom istraživanju najveći prosečna *KE* zabeležena je prilikom *THI5* od $5,61 \pm 2,16$ ml (Tabela 15), što je u suprotnosti sa većinom istraživanja koja ukazuju da pri visokim vrednostima *THI* proizvodnja i kvalitet sperme bikova drastično opada (Prathap i sar., 2017; Snoja i sar., 2013; Teixeira i sar., 2011). Ovaj rezultat može se objasniti malom veličinom uzoraka u grupi *THI5* ($n=60$), što može dovesti do veće statističke oscilacije i izraženijeg uticaja individualnih vrednosti. Takođe, kako je *THI* meren samo na početku spermatogeneze, moguće je da pravi period najvećeg stresa nije precizno zahvaćen, a da se stvarna akumulacija semena dešavala se u nešto drugačijem terminu.

Prosečne vrednosti za *GE* i *PSNS*, pokazale su ubedljivo najmanje vrednosti za vreme kategorije *THI5*, od $1170,34 \pm 680,27 \times 10^6/\text{ml}$ za *GE* i $2,91 \pm 0,96$ za *PSNS* (Tabela 15), što je u saglasnosti sa istraživanjima (Hafez, 1974; Kumar i sar. 2006).

Veoma jak stres ima vrednost $\text{THI} \geq 82$, i tada su reproduktivne osobine ozbiljno narušene, a u nekim slučajevima može doći do uginuća grla. U ovom periodu hlađenje grla je neophodno (Brouček i sar., 2007). Goveda odaju suvišnu toplotu tela pomoću četiri osnovna fizička principa: kondukcija, konvekcija, radijacija i evaporacija (Ewing i sar., 1999).

Kondukcija predstavlja razmenu toplote između dva medijuma direktnim kontaktom. Kada su goveda u stajaćem položaju odvajanje toplote pomoću kondukcije je minimalno. Takođe, duboka prostirka može usporiti hlađenje krava jer i sama proizvodi toplotu, lako je apsorbuje i sporo se hladi.

Konvekcija je prenošenje toplote molekulima sa toplog na hladniji objekat. U svakom objektu postoji prirodno kretanje vazduha što predstavlja prvi oblik kondukcije. Hlađenje grla pomoću kondukciju možemo poboljšati korišćenjem ventilatora u objektima, kako bi obezbedili optimalnu brzinu strujanja vazduha. Takođe, izmena toplote putem respiratornog trakta predstavlja oblik konvektivnog transfera toplote. (Yousef, 1985).

Radijacija predstavlja protok toplote zračenjem, koji zavisi od temperature i prirode radijacionih površina. Nivo radijacije ne zavisi samo od količine toplote vazduha, već i toplote sa površine tela životinje i toplote zagrejanih površina podova i zidova objekata (Mijić, 2013). Takođe zavisi od kondicije krava, boje kože i dlačnog pokrivača.

Evaporacija toplote ili isparavanje je vid prevođenja tečnosti u oblik pare na temperaturama ispod tačke ključanja date tečnosti. Brzina isparavanja zavisi od nivoa temperature na površini tela životinje, stepena relativne vlažnosti unutar objekta i brzine strujanja vazduha (Vučemilo i Tofant, 2009).

U tabeli 16 prikazane su razlike između *THI* kategorija kada je *THI* meren na početku spermatogeneze, primenom *T* testa, za prosečne vrednosti parametara *GE*; *PSNS* i *RS*.

Za *GE* ustanovljene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) između kategorije *THI1* i kategorije *THI3*, kategorije *THI3* i kategorije *THI4*, kao i između kategorija *THI1*, *THI2* i *THI4* i kategorije *THI5*. Značajne razlike ($p < 0,05$) između kategorije *THI2* i kategorije *THI3* i između

kategorije THI3 i kategorije THI5, dok nisu utvrđene značajne razlike ($p>0,05$) između kategorija THI1 i THI2 i kategorije THI4.

Za PSNS ustanovljene su veoma značajne razlike ($p<0,01$) između kategorije THI1 i kategorije THI3, kategorije THI3 i kategorije THI4 kao i između kategorija THI1, THI2 i THI4 i kategorije THI5. Značajne razlike ($p<0,05$) između kategorije THI1 i kategorije THI2, kategorije THI2 i kategorije THI3 i između kategorije THI3 i kategorije THI5, dok nisu utvrđene značajne razlike ($p>0,05$) između kategorije THI1 i kategorije THI2 i između kategorija THI1 i THI2 i kategorije THI4.

Za RS ustanovljene su veoma značajne razlike ($p<0,01$) između kategorija THI1 i THI4 i kategorije THI5. Značajne razlike ($p<0,05$) između kategorije THI1 i kategorije THI2, kategorije THI1 i kategorije THI3 i između kategorija THI 2 i THI3 i kategorije THI5, dok nisu utvrđene značajne razlike ($p>0,05$) između kategorije THI2 i kategorije THI3, između kategorija THI1, THI2 i THI3 i kategorije THI4.

Tabela 16: Vrednosti Studentovog - t testa za GE i PSNS i RS kada je THI meren na početku spermatogeneze

GE				
THI	t-vrednost			
	THI2	THI3	THI4	THI5
THI1	0,51 ^{NS}	2,35 **	0,36 ^{NS}	3,78 **
THI2		2,14 *	0,91 ^{NS}	3,67 **
THI3			2,64 **	1,68 *
THI4				4,01 **
PSNS				
THI	t-vrednost			
	THI2	THI3	THI4	THI5
THI1	1,96 *	3,46 **	0,74 ^{NS}	4,78 **
THI2		2,11 *	1,25 ^{NS}	3,85 **
THI3			2,96 **	2,22 *
THI4				4,43 **
RS				
THI	t-vrednost			
	THI2	THI3	THI4	THI5
THI1	1,68 *	1,66 *	1,09 ^{NS}	3,19 **
THI2		0,27 ^{NS}	0,60 ^{NS}	2,21 *
THI3			0,75 ^{NS}	1,85 *
THI4				2,54 **

KE-količina ejakulata; PSNS-pokretljivost spermatozoida native sperme; RS-razređenje sperme; THI1 – bez stresa; THI2 – blagi stress; THI3 – umereni stress; THI4 – jak stress; THI5 – veoma jak stress; ** - statistički visoko značajan uticaj ($p<0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p<0,05$); ^{NS} – statistički nema značajnosti.

4. 2. 2. Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta semena posle zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na početku spermatogeneze

U uslovima kada je THI meren na početku spermatogeneze od ukupnog broja ejakulata, 384 ejakulata je zamrznuto i proizvedeno je u proseku $482,96 \pm 178,50$ BZD. Nakon zamrzavanja, pored BZD, ispitivani su parametri PSNZ i OSNZ, koji su imali prosečne vrednosti od $0,53 \pm 0,08$ i $3,49 \pm 1,12$ (Tabela 17).

Tabela 17: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme posle zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na početku spermatogeneze

Pokazatelj	N	$\bar{X}$	SD	CV (%)	p-vrednost			
					Godina	Sezona	Starost bika	Toplotni stres
OSNZ	306	3,49	1,12	0,83	0,006**	0,664	0,022*	0,267
PSNZ	309	0,53	0,08	0,83	0,174	0,369	0,111	0,720
BZD	384	482,96	178,50	0,83	0,005**	0,001**	0,000**	0,004**

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%) - koeficijent varijacije (%); ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); OSNZ-ocena kvaliteta sprema nakon zamrzavanja; PSNZ- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza.

Jačina temperaturnog stresa merena 60 dana pre uzimanja sperme (aproksimirano kao početak spermatogeneze) nije imala statistički značajan uticaj ($p > 0,05$) na PSNZ i OSNZ. Toplotni stres posmatran kao THI meren na početku spermatogeneze imao je veoma značajan uticaj ($p < 0,01$) na BZD, što je u saglasnosti sa istraživanjima Al-Kanaan i sar. (2015).

Uticaj godine kada je THI meren na početku spermatogeneze bio je statistički veoma značajan ($p < 0,01$) na BZD i OSNZ, dok nije bio statistički značajan na PSNZ ($p > 0,05$).

Sezona, kada je THI meren na početku spermatogeneze, nije imala statistički značajan uticaj na parametre kvaliteta sperme nakon zamrzavanja, osim na parametar BZD na koji je uticala veoma značajno ($p < 0,01$), (Tabela 17). Prosečna vrednost za BZD u ovom istraživanju je bila $482,96 \pm 178,50$ što je više nego što je ustanovio Alragubi (2015), prosečno 424,33 i Hossain i sar. (2022), kod bikova munšigandž rase iz Bangladeša (prosečno $394,34 \pm 127,95$). Ovo se može tumačiti činjenicom da je proizvodnja semena u VO centru bila ograničena zbog malog tržišta na kojem se seme plasiralo i ukupnog finansijskog poslovanja tadašnje PK Beograd.

U ovom istraživanju starost bika imala je veoma značajan uticaj ($p < 0,01$) na BZD, što je u saglasnosti sa istraživanjima (Marinković i sar., 2020). Iz Tabele 17 se takođe može uočiti da je postojao značajan uticaj starosti bika ($p < 0,05$) na OSNZ, dok ovaj faktor nije imao uticaja ($p > 0,05$) na PSNZ. Ahmad i sar. (2003) ustanovili su veći broj doza kod bikova starosti od 3-5 godina, što je u skladu i sa ovim istraživanjem.

Tabela 18: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme posle zamrzavanja posmatrano po godinama kada je THI meren na početku spermatogeneze

Pokazatelj	Godina			
		2017	2018	2019
OSNZ	n	64	200	42
	$\bar{X}$	3,27	3,66	3,07
	SD	1,29	0,95	1,40
	CV (%)	39,44	25,96	45,70
PSNZ	n	67	200	42
	$\bar{X}$	0,50	0,54	0,52
	SD	0,07	0,08	0,09
	CV (%)	14,39	14,62	16,70
BZD	n	68	234	82
	$\bar{X}$	415,29	476,75	556,77
	SD	153,88	181,17	164,87
	CV (%)	37,05	38,00	29,61

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; *SD*-standardna devijacija; *CV (%)*-koeficijent varijacije (%); *OSNZ*-ocena kvaliteta sprema nakon zamrzavanja; *PSNZ*- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; *BZD*-broj zamrznutih doza.

Prosečne vrednosti za parametre količine i kvaliteta sperme nakon zamrzavanja, procenjeni kada je THI meren na početku spermatogeneze, po godinama, prikazani su u Tabeli 18. U odnosu na prethodne dve godine, u 2019. godini ustanovljen je najveći prosečni BZD po ejakulatu $556,77 \pm 164,87$. U 2018. godini utvrđena je najviša PSNZ $0,54 \pm 0,08$, i najviša OSNZ $3,66 \pm 0,95$ (Tabela 18). Možemo konstatovati da su bikovi u 2018. godini ostvarili bolji kvalitet sperme, kada posmatramo parametre OSNZ i PSNZ, ali da je u 2019. godini proizveden veći broj BZD.

Primenom Studentovog t-testa ustanovljeno je da su se pojtojale veoma značajne razlike ($p < 0,01$), kada je u pitanju OSNZ osim između 2017. i 2019. godine gde nisu ustanovljene značajne razlike ($p > 0,05$), dok se između svih godina prosečan BZD veoma značajno razlikovao ($p < 0,01$) (Tabela 19).

Tabela 19: Vrednosti Studentovog - t testa za OSNZ i BZD kada je THI meren na početku spermatogeneze

OSNZ			BZD		
Godina	t-vrednost		Godina	t-vrednost	
	2018	2019		2018	2019
2017	2,23 **	0,74 ^{NS}	2017	2,78 **	5,43 **
2018		2,61 **	2018		3,68 **

OSNZ-ocena kvaliteta sprema nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza.; ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); ^{NS} – statistički nema značajnosti.

Razlike između godina za parametre kvaliteta i količine semena OSNZ i BZD mogu se objasniti različitim uticajima faktora spoljašnje sredine u različitim godinama, kao i različitim menadžmentu u centru za veštačko osemenjavanje. Ovakva varijabilnost naglašava potrebu za praćenjem i prilagođavanjem uzgojnih i tehnoloških strategija u cilju očuvanja stabilnog kvaliteta i kvantiteta semena tokom godina, posebno u uslovima sve izraženijih klimatskih promena.

Tabela 20: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme posle zamrzavanja posmatrano po sezonama kada je THI meren na početku spermatogeneze

Pokazatelj	Sezona				
		Proleće	Leto	Jesen	Zima
OSNZ	n	117	6	43	140
	$\bar{X}$	3,59	3,00	3,30	3,49
	SD	1,04	1,55	1,28	1,11
	CV (%)	28,84	51,64	38,83	31,75
PSNZ	n	117	6	46	140
	$\bar{X}$	0,54	0,48	0,49	0,53
	SD	0,08	0,07	0,07	0,08
	CV (%)	14,56	14,51	14,20	15,27
BZD	n	154	17	46	167
	$\bar{X}$	531,75	496,47	444,46	447,19
	SD	170,07	171,05	153,59	183,62
	CV (%)	31,98	34,45	34,56	41,06

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%) - koeficijent varijacije (%); OSNZ-ocena kvaliteta sprema nakon zamrzavanja; PSNZ- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza.

Sezona nije značajno uticala na parametre količine i kvaliteta sperme nakon zamrzavanja, kada je THI meren na početku spermatogeneze ($p > 0,05$), osim na parametar BZD, na koji je sezona uticala veoma značajno ($p < 0,01$). Najviše prosečne vrednosti za BZD, PSNZ i OSNZ

utvrđene su za vreme proleća, $531,75 \pm 170,07$ za BZD, $0,54 \pm 0,08$ za PSNZ i $3,59 \pm 1,04$ za OSNZ (Tabela 20).

Primenom Studentovog t-testa ustanovljeno je da su razlike između sezona, kada je u pitanju parametar BZD, nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$), osim između proleća i jeseni i proleća i zime, gde su utvrđene razlike bile veoma značajne ($p < 0,01$) (Tabela 21).

Tabela 21: Vrednosti Studentovog - t testa za BZD kada je THI meren na početku spermatogeneze

BZD			
Sezona	t-vrednost		
	leto	jesen	zima
prolece	0,81 ^{NS}	3,3 **	4,28 **
leto		1,1 ^{NS}	1,12 ^{NS}
jesen			0,1 ^{NS}

BZD-broj zamrznutih doza.; ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); ^{NS} – statistički nema značajnosti.

Tabela 22: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme posle zamrzavanja posmatrano prema starosti bika kada je THI meren na početku spermatogeneze.

Pokazatelj	Starost bika, mes.			
		<24	24-36	>36
OSNZ	n	100	72	134
	$\bar{X}$	3,55	3,22	3,60
	SD	1,08	1,31	1,01
	CV (%)	30,33	40,76	28,14
PSNZ	n	101	73	135
	$\bar{X}$	0,53	0,51	0,53
	SD	0,08	0,08	0,08
	CV (%)	15,34	14,98	15,15
BZD	n	126	90	168
	$\bar{X}$	462,22	422,33	530,98
	SD	167,26	168,88	179,74
	CV (%)	36,19	39,99	33,85

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%) koeficijent varijacije (%); OSNZ-ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja; PSNZ- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza.

U ovom istraživanju najviše prosečne vrednosti pokazatelja količine i kvaliteta semena posle zamrzavanja, posmatrano kada je THI meren na početku spermatogeneze, ustanovljene su

kod starijih bikova (preko 36 meseci starosti). Za BZD vrednost je iznosila ($530,98 \pm 179,74$), PSNZ ($0,53 \pm 0,08$), OSNZ ($3,60 \pm 1,01$), respektivno (Tabela 22).

Niže vrednosti BZD u odnosu na ovo istraživanje utvrdili su autori Marinković i sar. (2020) i to: kod mlađih bikova prosečno 299, a kod starih bikova prosečno 474,9. U istom istraživanju, količine ejakulata kod starijih bikova bile su nešto veće, prosčno 6,73 ml, nego u ovom istraživanju. Kod bikova starih od 3-5 godina, znatno veće vrednosti za broj doza u odnosu na mlađe i starije bikove ustanovili su Ahmad i sar., (2003), što je u skladu i sa ovim istraživanjem.

Primenom Studentovog t-testa ustanovljene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) za OSNZ između mlađih i srednjih bikova i srednjih i starih bikova, dok nisu utvrđene značajne razlike između mlađih i starih bikova. Kada je u pitanju BZD ustanovljene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) između svih kategorija starosti bikova (Tabela 23).

Tabela 23: Vrednosti Studentovo - t testa za OSNZ i BZD kada je THI meren na početku spermatogeneze

OSNZ			BZD		
Starost bika	t-vrednost		Starost bika	t-vrednost	
	Srednji	Stari		Srednji	Stari
Mladi	1,75 **	0,36 ^{NS}	Mladi	1,72 **	3,38 **
Srednji		2,14 **	Srednji		4,81 **

OSNZ-ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza.; ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); ^{NS} – statistički nema značajnosti.

U ovom radu, ustanovljeno je najviše OSNZ i BZD kod najstarijih bikova, što je u skladu sa istraživanjima drugih autora (Ahmad i sar., 2003; Marinković i sar., 2020), Razlog za to može biti činjenica da su u grupi starijih bikova bili oni koji su selektovani i uzgajani zbog kvaliteta i količine sperme, dok su u mlađoj grupi bili bikovi čija je sperma sakupljena i na koje se čekaju rezultati bioloških testova.

Tabela 24: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme nakon zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na početku spermatogeneze

Pokazatelj	Kategorija toplotnog stresa					
		Bez stresa	Blagi stres	Umereni stres	Jak stres	Veoma jak stres
OSNZ	n	68	118	41	66	13
	$\bar{X}$	3,37	3,69	3,05	3,53	3,54
	SD	1,22	0,91	1,41	1,07	1,13
	CV (%)	36,24	24,64	46,36	30,31	31,84
PSNZ	n	67	120	43	65	14
	$\bar{X}$	0,53	0,54	0,48	0,53	0,51
	SD	0,08	0,08	0,07	0,08	0,07
	CV (%)	15,24	14,22	14,85	15,70	14,40
BZD	n	72	147	49	102	14
	$\bar{X}$	466,81	495,54	401,43	513,77	494,64
	SD	173,89	187,52	160,14	171,27	142,04
	CV (%)	37,25	37,84	39,89	33,34	28,72

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; *SD*-standardna devijacija; *CV (%)*-koeficijent varijacije (%); *OSNZ*-ocena kvaliteta sprema nakon zamrzavanja; *PSNZ*- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; *BZD*-broj zamrznutih doza.

Iako su najbolji rezultati za PSNZ (prosečno $0,54 \pm 0,08$) i OSNZ (prosečno $3,69 \pm 0,91$) (Tabela 24) dobijeni pod uticajem blagog stresa, kada je THI meren na početku spermatogeneze, uticaj temperaturnog stresa nije bio statistički značajan ($p > 0,05$).

Najmanji BZD ustanovljen je pod uticajem umerenog stresa (prosečno $401,43 \pm 160,14$) (Tabela 24), što je blisko rezultatima Al-Kanaan i sar. (2015), ali se razlikuje od istraživanja Prathap i sar. (2017), koji su najveći broj doza, bikova holštajn – frizijske, evidentirali pod uticajem veoma jakog stresa, prosečno $494,64 \pm 142,04$.

Primenom Studentovog t-testa ustanovljene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) za BZD između kategorije THI2 i kategorije THI3, kategorije THI3 i kategorije THI4, značajne razlike ($p < 0,05$) između kategorije THI1 i kategorije THI3, kategorije THI1 i kategorije THI4 i između kategorije THI3 i kategorije THI5, dok nisu utvrđene značajne razlike ($p > 0,05$), između kategorije THI2 i kategorije THI4, i kategorija THI1, THI2 i THI4 i kategorije THI5 (Tabela 25).

Tabela 25: Vrednosti Studentovog - t testa za BZD kada je THI meren na početku spermatogeneze

THI	BZD			
	t-vrednost			
	THI2	THI3	THI4	THI5
THI1	1,12 ^{NS}	2,13 *	1,77 *	0,65 ^{NS}
THI2		3,41 **	0,79 ^{NS}	0,02 ^{NS}
THI3			3,94 **	2,10 *
THI4				0,46 ^{NS}

BZD-broj zamrznutih doza.; THI1 – bez stresa; THI2 – blagi stress; THI3 – umereni stress; THI4 – jak stress; THI5 – veoma jak stress; ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); ^{NS} – statistički nema značajnosti.

BZD prvenstveno zavisi od KE i GE, pod uslovom da su ispunjeni i ostali uslovi za kvalitet sperme. Najmanji broj doza ($396,6 \pm 157,71$) u našem istraživanju dobijen je u uslovima umerenog stresa (THI3) na početku spermatogeneze, budući da je u tom periodu utvrđena i najmanja KE i niža GE. Ovo se može objasniti procesom spermatogeneze, jer u periodu od tri do šest nedelja nakon dejstva veoma jakog toplotnog stresa, pokretljivost spermatozoida, integritet plazma membrane i broj normalnih spermatozoida su smanjeni, a rana spermatogeneza se javlja nakon sedam do devet nedelja, a oporavak nakon 10-11 nedelja (Garcia-Oliveros i sar., 2022).

4. 2. 3. Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Tokom istraživanja, kada je THI meren na dan uzimanja sperme, od 32 bika je prikupljeno 1017 ejakulata čija je prosečna KE bila $5,115 \pm 2,16$ ml, što je viša vrednost od onih koje je prosečno ustanovio Jakovljević (2004), koje su se kretale u intervalu od 3,32 ml, do 4,21 ml. Od ukupnog broja ejakulata prvu proveru, GE je prošao 941 uzorak i u koima je u proseku bilo $1370,95 \pm 688,03 \times 10^6$ /ml spermatozoida. Na 924 uzoraka sperme ocenjena je PSNS prosečnom ocenom $3,24 \pm 0,91$. Nešto više vrednosti pokretljivosti spermatozoida naveo je Jakovljević (2004), od 3,73 do 4,81. Sledeći korak razređivanja sperme prošlo je 466 uzoraka, gde je prosečno RS iznosilo $1:19,83 \pm 3,62$ (Tabela 26).

Jačina temperaturnog stresa merena na dan uzimanja sperme imala je statistički veoma značajan uticaj ($p < 0,01$) na KE, što nije bio slučaj kada je THI meren na početku spermatogeneze. Takođe, ustanovljen je veoma značajan uticaj ($p < 0,01$) temperaturnog stresa na dan uzimanja sperme na GE. Međutim, nije utvrđen značajan uticaj ($p > 0,05$) temperaturnog stresa merenog na dan uzimanja sperme na PSNS i na RS (Tabela 26).

Uticaj godine, kada je THI meren na dan uzimanja sperme, bio je statistički veoma značajan ($p < 0,01$) na KE, PSNS i RS, dok je bio statistički značajan na GE ($p < 0,05$) (Tabela 26).

Tabela 26: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Pokazatelj	N	$\bar{X}$	SD	CV (%)	p-vrednost			
					Godina	Sezona	Starost bika	Toplotni stres
KE	1017	5,115	2,1575	42,18	0,008**	0,325	0,000**	0,000**
GE	941	1370,95	688,03	50,19	0,047*	0,050*	0,016*	0,005**
PSNS	924	3,24	0,91	28,02	0,006**	0,170	0,000**	0,152
RS	466	19,83	3,618	0,78	0,003**	0,112	0,086	0,689

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%) - koeficijent varijacije (%); ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); KE-količina ejakulata; GE-gustina ejakulata; PSNS-pokretljivost spermatozoida nativne sperme; RS-razređenje sperme.

Sezona u ovom istraživanju, kada je THI meren na dan uzimanja sperme, nije imala statistički značajan uticaj na parametre količine i kvaliteta nativne sperme, osim na GE ($p < 0,05$) (Tabela 26). Slično kao i u ovom istraživanju, autori Dhimi i sar. (2021) nisu ustanovili statistički značajan uticaj sezone na parametre proizvodnje i kvaliteta sperme.

Uzrast bikova, uticao je veoma značajno ($p < 0,01$) na KE i GE kada je THI meren na dan uzimanja sperme, dok nije utvđen statistički značajan uticaj ($p > 0,05$) na RS i PSNS (Tabela 26). Slične rezultate uticaja starosti na proizvodnju i kvalitet sperme bikova ustanovili su drugi autori (Morell, 2020; Majić Balić i sar., 2012; Bhave i sar., 2020; Snoja i sar., 2013).

Najveće prosečne vrednosti za KE, GE i PSNS, kada je THI meren na dan uzimanja sperme, je ustanovljen u 2019 godini (KE je prosečno iznosila $5,88 \pm 2,58$ ml, GE $1583,60 \pm 757,32 \times 10^6/\text{ml}$ i PSNS $3,67 \pm 0,70\%$), dok je najviša prosečna vrednost za parametar RS utvrđena u 2017 godini $1:20,43 \pm 3,66$, respektivno (Tabela 27). Možemo konstatovati da su bikovi u 2019. godini proizvodili spermu boljeg kvaliteta, kada su konstatovane najmanje vrednosti temperature i relativne vlažnosti vazduha.

Primenom Studentovog t-testa ustanovljene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) između godina za sve parametre nativne sperme, osim za GE između 2018. i 2019. godine i RE između 2017. i 2018. godine, gde nisu utvrđene značajne razlike ($p > 0,05$), (Tabela 28).

Tabela 27: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja posmatrano po godinama kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Pokazatelj	Godina			
		2017	2018	2019
KE	n	446	430	141
	$\bar{X}$	4,74	5,25	5,88
	SD	1,98	2,11	2,58
	CV (%)	41,66	40,18	43,79
GE	n	420	396	125
	$\bar{X}$	1162,21	1525,20	1583,60
	SD	686,89	601,27	757,32
	CV (%)	59,10	39,42	47,82
PSNS	n	409	392	123
	$\bar{X}$	2,92	3,45	3,67
	SD	0,95	0,81	0,70
	CV (%)	32,33	23,61	19,02
RS	n	129	245	92
	$\bar{X}$	20,43	19,97	18,60
	SD	3,66	3,72	2,98
	CV (%)	17,91	18,62	16,02

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%) - koeficijent varijacije (%); KE-količina ejakulata; GE-gustina ejakulata; PSNS-pokretljivost spermatozoida nativne sperme; RS-razređenje sperme.

Tabela 28: Vrednosti Studentovog t-testa za KE, GE, PSNS i RS kada je THI meren na dan uzimanja sperme

KE			GE		
Godina	t-vrednost		Godina	t-vrednost	
	2018	2019		2018	2019
2017	3,69 **	4,82 **	2017	8,13 **	5,58 **
2018		2,63 **	2018		0,73 ^{NS}
PSNS			RS		
Godina	t-vrednost		Godina	t-vrednost	
	2018	2019		2018	2019
2017	8,51 **	9,53 **	2017	1,15 ^{NS}	4,09 **
2018		2,92 **	2018		3,50 **

KE-količina ejakulata; GE-gustina ejakulata; PSNS-pokretljivost spermatozoida nativne sperme; RS-razređenje sperme; ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); ^{NS} – statistički nema značajnosti.

Primenom Studentovog t-testa ustanovljene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) za KE i PSNS između sve tri godine, za GE se samo 2017. godina se veoma značajno razlikovala ($p < 0,01$) od 2018. i 2019. godine, za RE 2019. godina se veoma značajno razlikovala ($p < 0,01$) od 2017. i 2019. godine, dok nisu utvrđene značajne razlike ($p > 0,05$) za GE između 2018. i 2019. godine i za RE između 2017. i 2018. godine. (Tabela 28).

Prema istraživanju Cincović i sar. (2023) na teritoriji Srbije, u Beogradu 2017. godina, sa prosečnom temperaturom vazduha od 11,5°C, bila je sedma najtoplija godina od početka rada meteoroloških službi. U Beogradu su zabeležena 63 tropska dana, što je 26 dana više od prosečnih vrednosti za ovaj grad. Takođe, registrovano je 39 tropskih noći, što je 22 noći više od proseka. Sledeća 2018. godina u Beogradu, bila je najtoplija godina od početka rada meteoroloških stanica, sa 14,5°C. Prosečna temperatura vazduha u Beogradu u 2019. godini bila je 14,7°C, za 0,2°C viša od prethodne najtoplije 2018. godine. U 2019. godini u Beogradu je zabeleženo 59 tropskih dana, što je 22 dana više od prosečnog broja.

Možemo zaključiti da su godine u kojima je istraživanje bilo sprovedeno, godine sa velikim temperaturnim oscilacijama i ekstremnim toplotnim talasima, što može objasniti razlike između parametara kvaliteta i količine semena u tim godinama.

Tabela 29: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja posmatrano po sezonama kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Pokazatelj		Sezona			
		Proleće	Leto	Jesen	Zima
KE	n	256	60	386	315
	$\bar{X}$	5,54	4,78	4,84	5,17
	SD	2,26	2,23	1,98	2,21
	CV (%)	40,80	46,70	40,93	42,81
GE	n	240	45	357	299
	$\bar{X}$	1589,58	1328,89	1142,94	1474,01
	SD	637,25	629,53	691,22	653,12
	CV (%)	40,09	47,37	60,48	44,31
PSNS	n	239	45	345	295
	$\bar{X}$	3,52	3,20	2,89	3,44
	SD	0,79	0,92	0,96	0,80
	CV (%)	22,51	28,73	33,12	23,15
RS	n	169	19	108	170
	$\bar{X}$	19,80	19,68	20,43	19,49
	SD	3,67	3,68	3,78	3,44
	CV (%)	18,53	18,71	18,50	17,63

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; *SD*-standardna devijacija; *CV (%)*-koeficijent varijacije (%); *KE*-količina ejakulata; *GE*-gustina ejakulata; *PSNS*-pokretljivost spermatozoida native sperme; *RS*-razređenje sperme.

Sezona nije značajno uticala na parametre kvaliteta native sperme, kada je THI meren na dan uzimanja sperme ($p > 0,05$), osim na parametar *GE*, na koji je sezona uticala značajno ($p < 0,05$).

Ipak, najmanje prosečne vrednosti za KE $4,78 \pm 2,23$ ml ustanovljene su tokom leta. Jesenja sezona uticala je na negativno na parametre GE $1142,94 \pm 691,22 \times 10^6/\text{ml}$ i PSNS $2,89 \pm 0,96$ (Tabela 29). Ove vrednosti, slično kao i u delu rada u kojem je ispitivan uticaj sezone, u vreme merenja THI na početku spermatogeneze, ukazuju na efekat prenošenja toplotnog stresa, što su ustanovili i autori (Herbut i Angrecka, 2018).

Primenom Studentovog t-testa ustanovljene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) za GE između sezona proleće i leto, proleće i jesen i jeseni i zime, značajne razlike ($p < 0,05$) između sezona proleće i zima i leta i jeseni, dok značajne razlike nisu utvrđene ($p > 0,05$) između sezone leta i zime (Tabela 30).

Tabela 30: Vrednosti Studentovog - t testa za GE kada je THI meren na dan uzimanja sperme

GE			
Sezona	t-vrednost		
	leto	jesen	zima
proleće	2,54 **	8,11 **	2,07 *
leto		1,85 *	1,43 ^{NS}
jesen			6,30 **

GE-gustina ejakulata; ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); ^{NS} – statistički nema značajnosti.

Tabela 31: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja posmatrano prema starosti bika kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Pokazatelj	Starost bika, mes.			
		<24	24-36	>36
KE	n	280	346	391
	$\bar{X}$	5,25	4,58	5,49
	SD	1,98	1,97	2,34
	CV (%)	37,64	42,96	42,69
GE	n	263	314	364
	$\bar{X}$	1359,32	1299,30	1441,15
	SD	676,01	734,34	649,28
	CV (%)	49,73	56,52	45,05
PSNS	n	259	305	360
	$\bar{X}$	3,28	3,07	3,37
	SD	0,94	0,91	0,86
	CV (%)	28,67	29,76	25,55
RS	n	147	114	205
	$\bar{X}$	19,42	19,63	20,23
	SD	3,94	3,58	3,36
	CV (%)	20,31	18,23	16,63

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; *SD*-standardna devijacija; *CV* (%) - koeficijent varijacije (%); *KE*-količina ejakulata; *GE*-gustina ejakulata; *PSNS*-pokretljivost spermatozoida native sperme; *RS*-razređenje sperme.

Najviše prosečne vrednosti pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja, posmatrano kada je THI meren na dan uzimanja sperme, ustanovljene su kod starijih bikova (preko 36 meseci starosti). Za *KE* vrednost je iznosila $5,49 \pm 2,34$ ml, *GE* $1441,15 \pm 649,28 \times 106/\text{ml}$ *PSNS* $3,37 \pm 0,86$, *RS* 1: $20,23 \pm 3,36$, respektivno (Tabela 31). Slične vrednosti za količinu ejakulata ustanovili su Mathevon i sar. (1998).

Primenom Studentovog t-testa ustanovljene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) za *KE* između mlađih i srednjih bikova, kao i između srednjih i starih bikova, jedino nisu utvrđene, značajne razlike ($p > 0,05$) između mlađih i starih bikova. Kod *GE* utvrđene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) između srednjih i starih bikova, dok kod *PSNS* ustanovljene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) između mlađih i srednjih bikova, kao i između srednjih i starih bikova (Tabela 32).

Tabela 32: Vrednosti Studentovog - t testa za *KE*, *GE* i *PSNS* kada je THI meren na dan uzimanja sperme

KE			GE			PSNS		
Starost Bika	t-vrednost		Starost Bika	t-vrednost		Starost Bika	t-vrednost	
	Srednji	Stari		Srednji	Stari		Srednji	Stari
Mladi	4,22 **	1,43 ^{NS}	Mladi	1,28 ^{NS}	1,52 ^{NS}	Mladi	2,68**	1,22 ^{NS}
Srednji		5,73 **	Srednji		3,54 **	Srednji		4,36 **

KE-količina ejakulata; *GE*-gustina ejakulata; *PSNS*-pokretljivost spermatozoida native sperme; ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); ^{NS} – statistički nema značajnosti.

Tabela 33: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja posmatrano prema kategoriji toplotnog stresa kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Pokazatelj		Kategorija toplotnog stresa				
		Bez stresa	Blagi stres	Umereni stres	Jak stres	Veoma jak stres
KE	n	132	269	209	318	89
	$\bar{X}$	5,15	5,06	5,34	5,26	4,18
	SD	2,20	2,22	2,21	2,05	1,95
	CV (%)	42,65	43,80	41,27	39,06	46,67
GE	n	129	249	194	295	74
	$\bar{X}$	1478,14	1509,64	1234,95	1342,03	1189,19
	SD	583,15	736,67	676,86	673,36	668,23
	CV (%)	39,45	48,80	54,81	50,17	56,19
PSNS	n	128	245	192	288	71
	$\bar{X}$	3,43	3,38	3,09	3,22	2,97
	SD	0,81	0,84	0,99	0,89	1,04
	CV (%)	23,62	24,83	31,92	27,64	35,05
RS	n	77	138	90	135	26
	$\bar{X}$	20,13	19,72	19,54	19,82	20,50
	SD	3,73	3,37	4,01	3,63	3,20
	CV (%)	18,51	17,07	20,54	18,29	15,62

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; *SD*-standardna devijacija; *CV (%)*-koeficijent varijacije (%); *KE*-količina ejakulata; *GE*-gustina ejakulata; *PSNS*-pokretljivost spermatozoida nativne sperme; *RS*-razređenje sperme.

Najmanja prosečna KE, kada je THI meren na dan uzimanja sperme, zabeležena je prilikom veoma jakog stresa, što je u saglasnosti sa većinom istraživanja koja ukazuju da pri visokim vrednostima THI proizvodnja i kvalitet sperme bikova drastično opada (Prath i sar., 2017; Snoja i sar., 2013; Teixeira i sar., 2011). Takođe, konstatovali smo da i GE i PSNS opadaju sa povećanjem vrednosti THI, najmanje prosečne vrednosti GE i PSNS su zabeležene takođe tokom veoma jakog stresa, prosečno $1189,19 \pm 668,23 \times 10^6/\text{ml}$ i $2,97 \pm 1,04$ (Tabela 33).

Primenom Studentovog t-testa ustanovljene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) za KE između THI5 i ostalih kategorija toplotnog stresa, za GE između kategorija THI1 i THI2 i kategorije THI3, kategorije THI2 i kategorije THI4, kategorija THI1 i THI2 i kategorije THI5. Značajne razlike ($p < 0,05$) utvrđene su za GE između kategorije THI1 i kategorije THI4, kategorije THI3 i kategorije THI 4 kao i kategorije THI4 i kategorije THI 5. Dok nisu utvrđene značajne razlike ($p > 0,05$) za KE između ostalih kategorija, za GE između kategorije THI1 i kategorije THI2 i kategorije THI4 i kategorije THI5 (Tabela 34).

Tabela 34: Vrednosti Studentovog t-testa za KE i GE kada je THI meren na dan uzimanja sperme

KE					GE				
THI	t-vrednost				THI	t-vrednost			
	THI2	THI3	THI4	THI5		THI2	THI3	THI4	THI5
THI1	0,38 ^{NS}	0,78 ^{NS}	0,49 ^{NS}	3,44 ^{**}	THI1	0,45 ^{NS}	3,44 ^{**}	2,11 [*]	3,10 ^{**}
THI2		1,37 ^{NS}	1,13 ^{NS}	3,56 ^{**}	THI2		4,08 ^{**}	2,75 ^{**}	3,54 ^{**}
THI3			0,42 ^{NS}	4,51 ^{**}	THI3			1,71 [*]	0,50 ^{NS}
THI4				4,57 ^{**}	THI4				1,76 [*]

KE-količina ejakulata; GE-gustina ejakulata; THI1 – bez stresa; THI2 – blagi stress; THI3 – umereni stress; THI4 – jak stress; THI5 – veoma jak stress; ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); ^{NS} – statistički nema značajnosti.

4. 2. 4. Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta semena posle zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Od ukupnog broja ejakulata, 448 ejakulata je zadovoljilo kriterijume i prošlo na dalje zamrzavanje, od svakog od njih proizvedeno je u proseku $476,50 \pm 177,53$ BZD. Nakon zamrzavanja, pored parametra o BZD, ispitivani su PSNZ i OSNZ, koji su imali prosečne vrednosti od $0,53 \pm 0,08$ i $3,46 \pm 1,15$ (Tabela 35). Vrednosti za PSNZ slične su vrednostima koje je Jakovljević (2016) ustanovio u svom istraživanju (od 42,95 % do 54,14 %.)

Jačina temperaturnog stresa, kada je THI merena na dan uzimanja sperme, nije imala statistički značajan uticaj ($p > 0,05$) na ispitivane parametre kvaliteta i kvantiteta sperme nakon zamrzavanja (Tabela 35), što je u suprotnosti s istraživanjem Al-Kanaan i sar. (2015).

Tabela 35: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta semena posle zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Pokazatelj	n	$\bar{X}$	SD	CV (%)	p-vrednost			
					Godina	Sezona	Starost bika	Toplotni stres
OSNZ	364	3,46	1,148	0,32	0,000**	0,663	0,013*	0,293
PSNZ	367	0,54	0,08	0,02	0,053	0,817	0,040*	0,650
BZD	448	476,50	177,527	39,63	0,002**	0,107	0,000**	0,169

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%) - koeficijent varijacije (%). ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); OSNZ-ocena kvaliteta sprema nakon zamrzavanja; PSNZ- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza.

Uticaj godine, kada je THI meren na dan uzimanja sperme, bio je statistički veoma značajan ($p < 0,01$) na BZD i OSNZ, dok nije pokazivao statističku značajnost na PSNZ ($p > 0,05$).

Sezona u ovom istraživanju, kada je THI meren na dan uzimanja sperme, nije imala statistički značajan uticaj na parametre količine i kvaliteta sperme nakon zamrzavanja. Starost bika imala je veoma značajan uticaj ($p < 0,01$) na BZD, što je slično kao i u istraživanju Marinković i sar. (2020), koji su takođe utvrdili statistički značajan uticaj ($p < 0,05$) na OSNZ i PSNZ (Tabela 35).

Najviše prosečne vrednosti za parametre količine i kvaliteta sperme nakon zamrzavanja, kada je THI meren na dan uzimanja sperme, za PSNZ $0,54 \pm 0,08$ i OSNZ $3,66 \pm 0,94$, utvrđeni su u 2018. godini, dok je najveći BZD ustanovljen u 2019. godini, u kojoj je BZD po ejakulatu prosečno iznosio $556,77 \pm 164,87$ (Tabela 36).

Primenom Studentovog -t testa ustanovljene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) za OSNZ između 2017. i 2018. godine, kao i između 2018. i 2019. godine, dok nisu ustanovljene značajne razlike ($p < 0,05$) između 2017. i 2019. godine. Za BZD ustanovljene su veoma značajne razlike ($p < 0,01$) za sve godine u istraživanju (Tabela 37).

Tabela 36: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme posle zamrzavanja posmatrano po godinama kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Pokazatelj		Godina		
		2017	2018	2019
OSNZ	n	117	205	42
	$\bar{X}$	3,23	3,66	3,07
	SD	1,30	0,94	1,40
	CV (%)	40,31	25,63	45,70
PSNZ	n	120	205	42
	$\bar{X}$	0,50	0,54	0,52
	SD	0,09	0,08	0,08
	CV (%)	17,46	14,61	15,13
BZD	n	125	241	82
	$\bar{X}$	428,25	474,21	556,77
	SD	161,43	180,67	164,87
	CV (%)	37,70	38,10	29,61

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%)-koeficijent varijacije (%); OSNZ-ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja; PSNZ- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza.

Tabela 37: Vrednosti Studentovog - t testa za OSNZ i BZD kada je THI meren na dan uzimanja sperme

OSNZ			BZD		
Godina	t-vrednost		Godina	t-vrednost	
	2018	2019		2018	2019
2017	3,14 **	0,65 ^{NS}	2017	2,48 **	5,53 **
2018		2,61 **	2018		3,82 **

OSNZ-ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza; ** - statistički visoko značajan uticaj; ^{NS} – statistički nema značajnosti.

Tabela 38: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme posle zamrzavanja posmatrano po sezonama kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Pokazatelj		Sezona			
		Proleće	Leto	Jesen	Zima
OSNZ	n	119	7	96	142
	$\bar{X}$	3,60	3,14	3,24	3,50
	SD	1,03	1,46	1,30	1,10
	CV (%)	28,58	46,58	40,25	31,51
PSNZ	n	119	7	99	142
	$\bar{X}$	0,54	0,51	0,50	0,53
	SD	0,08	0,11	0,09	0,08
	CV (%)	14,46	20,86	18,05	15,19
BZD	n	156	18	103	103
	$\bar{X}$	532,18	484,72	444,04	444,39
	SD	169,07	173,27	162,14	183,04
	CV (%)	31,77	35,75	36,51	41,19

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%) - koeficijent varijacije (%); OSNZ-ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja; PSNZ- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza.

Sezona nije značajno uticala ($p > 0,05$) na parametre količine i kvaliteta sperme nakon zamrzavanja, kada je THI meren na dan uzimanja sperme. Ipak, najviše prosečne vrednosti za BZD, PSNZ i OSNZ utvrđene su za vreme proleća, $532,18 \pm 169,07$ za BZD, $0,54 \pm 0,08$ za PSNZ i $3,60 \pm 1,03$ za OSNZ (Tabela 38). Slične vrednosti za ukupnu pokretljivost ustanovili su i Cojkic i sar. (2024) godine. U njihovom istraživanju prosečna ukupna pokretljivost spermatozoida se kretala u intervalu od 50,66 % tokom proleća do 51, 48% tokom letnje sezone.

Kontradiktorni rezultati uticaja sezone i klimatskih faktora na kvalitet i količinu sperme, ustanovljeni su čak i na istim geografskim lokacijama, ali u različitim periodima. Tako, u prvoj

studiji Brito i sar. (2002) nisu ustanovili uticaj temperature i vlažnosti vazduha na kvalitet sperme u Brazilu, u poređenju sa studijom sprovedenom nekoliko godina kasnije takođe u Brazilu (Nichi i sar., 2006), gde je sezona imala uticaj na kvalitet sperme, iako su prosečne temperature u ovim studijama bile slične. Ovo sugerise da i drugi faktori, osim klimatskih uticaja, mogu imati značaj na kvalitet sperme.

Tabela 39: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme posle zamrzavanja posmatrano prema starosti bika kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Pokazatelj	Starost bika, mes.			
		<24	24-36	>36
OSNZ	n	112	86	166
	$\bar{X}$	3,49	3,21	3,56
	SD	1,13	1,32	1,05
	CV (%)	32,40	41,15	29,41
PSNZ	n	113	88	166
	$\bar{X}$	0,52	0,51	0,53
	SD	0,09	0,08	0,08
	CV (%)	17,85	15,18	15,07
BZD	n	141	107	200
	$\bar{X}$	454,97	417,06	523,48
	SD	169,86	166,28	176,97
	CV (%)	37,33	39,87	33,81

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%) -koeficijent varijacije (%); OSNZ-ocena kvaliteta sprema nakon zamrzavanja; PSNZ- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza.

U ovom istraživanju najviše prosečne vrednosti pokazatelja količine i kvaliteta semena nakon zamrzavanja, posmatrano kada je THI meren na dan uzimanja sperme, ustanovljene su kod starijih bikova (preko 36 meseci starosti). Za BZD ta vrednost je iznosila $523,48 \pm 176,97$, PSNZ $0,53 \pm 0,08$, OSNZ $3,56 \pm 1,05$ (Tabela 39), dok su najmanje prosečne vrednosti zabeležene kod srednje starih bikova (od 24 do 36 meseci) za OSNZ $3,21 \pm 1,32$, PSNZ $0,51 \pm 0,08$ i BZD $417,06 \pm 166,28$ (Tabela 39).

Primenom Studentovog t-testa ustanovljene su jedino značajne razlike ($p < 0,05$) za OSNZ i PSNS između srednjih i starih bikova, dok su za BZD ustanovljene veoma značajne razlike ($p < 0,01$) između mlađih i starih bikova i srednjih i starih bikova, a značajne razlike ($p < 0,05$) između mlađih i srednjih bikova (Tabela 40).

Tabela 40: Vrednosti Studentovog - t testa za OSNZ, PSNZ i BZD kada je THI meren na dan uzimanja sperme

OSNZ			PSNZ			BZD		
Starost Bika	t-vrednost		Starost Bika	t-vrednost		Starost Bika	t-vrednost	
	Srednji	Stari		Srednji	Stari		Srednji	Stari
Mladi	1,57 ^{NS}	0,52 ^{NS}	Mladi	0,83 ^{NS}	0,95 ^{NS}	Mladi	1,76 *	3,60 **
Srednji		2,13 *	Srednji		1,90 *	Srednji		5,22 **

OSNZ-ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja; PSNZ- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza; ** - statistički visoko značajan uticaj; * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); ^{NS} – statistički nema značajnosti.

Tabela 41: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme nakon zamrzavanja posmatrano prema kategoriji THI, kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Pokazatelj		Kategorija toplotnog stresa				
		THI1	THI2	THI3	THI4	THI5
OSNZ	n	74	111	52	112	15
	$\bar{X}$	3,55	3,54	3,35	3,42	3,00
	SD	1,07	1,07	1,23	1,18	1,46
	CV (%)	30,23	30,18	36,90	34,59	48,80
PSNZ	n	74	112	51	115	15
	$\bar{X}$	0,53	0,53	0,53	0,52	0,50
	SD	0,09	0,08	0,10	0,08	0,11
	CV (%)	16,04	14,81	18,91	14,95	22,67
BZD	n	76	138	81	128	25
	$\bar{X}$	448,55	450,80	509,44	508,02	435,20
	SD	194,92	158,40	188,81	175,11	164,03
	CV (%)	43,46	35,14	37,06	34,47	37,69

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%) - koeficijent varijacije (%); OSNZ-ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja; PSNZ- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza; THI1 – bez stresa; THI2 – blagi stress; THI3 – umereni stress; THI4 – jak stress; THI5 – veoma jak stress.

Iako su najmanje prosečne vrednosti za OSNZ ($3,00 \pm 1,46$) i PSNZ ($0,50 \pm 0,11$) dobijeni pod uticajem veoma jakog stresa, uticaj temperaturnog stresa, merenog na dan uzimanja sperme, nije bio statistički značajan ($p > 0,05$). Najviši prosečan BZD ustanovljen je u uslovima THI3 $509,44 \pm 188,81$, dok je najmanji prosečan BZD ustanovljen za vreme THI5 $435,20 \pm 164,03$ (Tabela 41).

Zanimljivo je da je BZD kod kategorije THI3 i THI4 bio veći nego kod kategorija THI1 i THI2. Ovo može ukazivati na moguće adaptivne mehanizme organizma u uslovima srednjeg intenziteta stresa. Vrednosti zabeležene tokom kategorije THI5 ukazuju na značajan pad u broju doza u poređenju sa optimalnim uslovima i ukazuje na negativan uticaj THI na kvalitet semena. Parametri količine i kvaliteta semena nakon zamrzavanja u našem istraživanju se uglavnom smanjuju sa porastom toplotnog stresa, što je u skladu sa nalazima iz drugih radova (Luceno i sar., 2020; Seif-Jamadi i sar., 2019 i Sabés-Alsina i sar., 2019).

4. 3. Genetska varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme

4. 3. 1. Uticaj bika na pokazatelje količine i kvaliteta sperme

Da bi se ocenio uticaj svakog bika na pokazatelje količine i kvaliteta native sperme i sperme nakon zamrzavanja, u matematičko-statistički modelje uključen fiksni uticaj bika, pored uticaja godine, sezone i toplotnog stresa.

Kada su u pitanju pokazatelji kvaliteta i količine native sperme i sperme nakon zamrzavanja, u uslovima kada je THI meren na početku spermatogeneze, uticaj bika je bio visokoznačajan ($p < 0,01$) na ispoljavanje svih pokazatelja (Tabele 42 i 43).

Tabela 42: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta native sperme i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na početku spermatogeneze

Pokazatelj	n	$\bar{X}$	SD	CV (%)	p-vrednost			
					Bik	Godina	Sezona	Toplotni stres
KE	749	5,33	2,18	40,95	0,000**	0,002**	0,039*	0,218
GE	694	1486,14	669,62	45,06	0,000**	0,262	0,603	0,032*
PSNS	683	3,42	0,83	24,29	0,000**	0,821	0,103	0,036*
RS	402	19,76	3,49	17,64	0,000**	0,000**	0,093	0,118

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; SD-standardna devijacija; CV (%)-koeficijent varijacije (%); ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); KE-količina ejakulata; GE-gustina ejakulata; PSNS-pokretljivost spermatozoida native sperme; RS-razređenje sperme.

Tabela 43: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme posle zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na početku spermatogeneze

Pokazatelj	N	$\bar{X}$	SD	CV (%)	p-vrednost			
					Bik	Godina	Sezona	Toplotni stres
OSNZ	306	3,49	1,12	0,83	0,001**	0,001**	0,721	0,082
PSNZ	309	0,53	0,08	0,83	0,001**	0,029*	0,594	0,354
BZD	384	482,96	178,50	0,83	0,000**	0,025*	0,000**	0,003**

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; *SD*-standardna devijacija; *CV* (%) - koeficijent varijacije (%); ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); *OSNZ*-ocena kvaliteta sprema nakon zamrzavanja; *PSNZ*- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; *BZD*-broj zamrznutih doza.

Isti matematičko-statistički model je primenjen i kada su ispitivani pokazatelji količine i kvaliteta sperme kada je THI meren na dan uzimanja sperme. U ovom istraživanju fiksni uticaj bika pokazao visoko značajan uticaj ($p < 0,01$) na sve osobine nativne sperme (Tabela 44) i sperme nakon zamrzavanja (Tabela 45), kada je THI meren na dan uzimanja sperme.

Tabela 44: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Pokazatelj	n	$\bar{X}$	SD	CV (%)	p-vrednost			
					Bik	Godina	Sezona	Toplotni stres
KE	1017	5,115	2,1575	42,18	0,000**	0,026*	0,162	0,000
GE	941	1370,95	688,03	50,19	0,000**	0,068	0,383	0,001**
PSNS	924	3,24	0,91	28,02	0,000**	0,057	0,422	0,175
RS	19,83	466	3,618	0,78	0,000**	0,001**	0,154	0,242

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; *SD*-standardna devijacija; *CV* (%) - koeficijent varijacije (%). ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); *OSNZ*-ocena kvaliteta sprema nakon zamrzavanja; *PSNZ*- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; *BZD*-broj zamrznutih doza.

Tabela 45: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme posle zamrzavanja i značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Pokazatelj	n	$\bar{X}$	SD	CV (%)	p-vrednost			
					Bik	Godina	Sezona	Toplotni stres
OSNZ	364	3,46	1,148	0,32	0,001**	0,000**	0,856	0,190
PSNZ	367	0,54	0,08	0,02	0,000**	0,005**	0,953	0,626
BZD	448	476,50	177,527	39,63	0,000**	0,001**	0,109	0,045*

n-ukupan broj podataka u obradi; $\bar{X}$ -prosečne vrednosti; *SD*-standardna devijacija; *CV (%)*-koeficijent varijacije (%). ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$); *OSNZ*-ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja; *PSNZ*- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; *BZD*-broj zamrznutih doza.

U ovom istraživanju kada je THI meren na početku spermatogeneze najviša prosečna vrednost za KE utvrđene su kod bika 15 na 53 uzoraka od $7,38 \pm 3,01$ mL, a najmanja kod bika 3 na 23 uzoraka od $3,34 \pm 1,39$ mL. Najveću prosečnu GE imao je bik 35 na 53 uzoraka od $1959,43 \pm 450,11$ 106/ml, a najmanju bik 37 na 9 uzoraka od $344,44 \pm 174,01$ 106/ml. PSNS se kretala u intervalu od $2,00 \pm 0,50$ za bika 37 na 9 uzoraka do $3,96 \pm 0,19$ za bika 35 na 52 uzoraka. Dok su najviše prosečne vrednosti za RS ustanovljene kod bika 3 na 13 uzoraka od $21,69 \pm 3,77$, a najmanje kod bika 27 na 4 uzoraka od $13,50 \pm 2,08$ (Tabela 46).

Tabela 46: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta native sperme po bikovima kada je THI meren na početku spermatogeneze

Bik	KE			GE			PSNS			RS		
	n	$\bar{X}$	SD	n	$\bar{X}$	SD	n	$\bar{X}$	SD	n	$\bar{X}$	SD
1	65	6,01	1,77	64	1662,50	511,61	62	3,73	0,63	52	20,12	3,48
2	25	6,78	1,96	24	1572,92	329,35	24	3,71	0,75	18	18,11	2,65
3	23	3,35	1,39	18	1900,00	840,87	18	3,61	0,85	13	21,69	3,77
4	22	5,68	1,96	21	761,90	297,45	21	2,24	0,54			
5	25	5,09	1,62	23	1445,65	505,18	23	3,52	0,79	17	18,12	3,94
6	18	4,83	1,34	18	1269,44	431,53	18	3,39	0,78	9	17,22	1,56
7	27	5,63	1,82	26	1669,23	876,25	26	3,58	0,70	19	19,37	3,70
8	33	7,08	2,10	32	1169,69	443,43	32	3,16	0,81	12	17,25	1,71
11	8	3,75	1,04	7	1628,57	636,96	7	3,86	0,90			
13	59	5,15	2,17	53	1764,15	621,13	53	3,77	0,67	42	20,95	2,53
15	53	7,38	3,01	48	1311,46	442,34	48	3,27	0,76	23	17,61	2,92
17	22	4,02	1,53	20	955,00	516,54	19	2,95	0,85	6	17,17	3,31
18	16	3,66	1,49	14	1850,00	650,15	14	3,43	1,02	10	21,00	5,12
20	14	6,64	1,92	13	923,08	503,58	11	2,64	0,81	3	17,00	4,36
21	30	4,08	1,47	29	1820,69	372,62	29	3,86	0,35	25	20,64	3,19
22	8	3,38	1,71	6	1125,00	551,14	6	3,00	1,10			
23	58	5,59	1,85	56	1616,07	478,17	56	3,66	0,61	40	19,83	3,37
24	12	5,29	1,54	12	1508,33	654,30	12	3,33	0,89	7	19,43	4,08
25	17	3,81	1,62	16	1084,38	551,28	15	2,73	0,88			
26	18	3,44	1,24	16	856,25	536,93	16	2,69	1,14	4	16,50	5,07
27	15	3,83	1,92	11	936,36	304,21	11	2,91	0,83	4	13,50	2,08
30	27	6,44	2,35	25	1308,00	581,43	24	3,08	0,78	9	18,11	2,37
32	55	5,03	1,85	51	1915,69	925,50	48	3,67	0,66	39	20,56	2,77
33	12	5,50	1,07	12	1075,00	445,43	12	3,08	0,79			
34	12	4,29	2,04	10	780,00	418,46	10	2,60	0,84			
35	54	5,29	1,50	53	1959,43	450,11	52	3,96	0,19	50	21,44	3,14
37	13	4,35	2,24	9	344,44	174,01	9	2,00	0,50			
38	8	4,00	1,60	7	1100,00	702,38	7	3,00	0,82			
Ukupno	749	5,33	2,18	694	1486,14	669,62	683	3,42	0,83	402	19,76	3,49

KE-količina ejakulata; GE-gustina ejakulata; PSNS-pokretljivost spermatozoida native sperme; RS-razređenje sperme

U uslovima kada je THI meren na početku spermatogeneze najviša prosečna vrednosti za OSNZ utanovljena je kod bika 2 na 10 uzoraka i bika 27 na 4 uzoraka od $4,00 \pm 0,00$, a najmanje kod bika 17 na 6 uzoraka od $2,50 \pm 1,64$. Najveću prosečnu PSNZ imao je bik 23 na 31 uzorku od $0,57 \pm 0,06$, a najmanju bik 17 na 6 uzoraka od $0,44 \pm 0,09$, dok se BZD kretao u intervalu od $258,75 \pm 64,86$ za bika 27 na 4 uzoraka do $706,82 \pm 205,64$ za bika 15 na 22 uzoraka.

Tabela 47: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme nakon zamrzavanja po bikovima kada je THI meren na početku spermatogeneze

	OSNZ			PSNZ			BZD		
BIK	n	X	SD	n	X	SD	n	X	SD
1	37	3,59	1,04	38	0,56	0,08	48	539,27	172,94
2	10	4,00	0,00	10	0,54	0,05	16	522,50	90,50
3	13	3,77	0,83	13	0,53	0,08	14	367,86	120,24
5	15	3,20	1,37	15	0,50	0,06	17	385,00	128,18
6	7	3,14	1,46	7	0,49	0,15	8	367,50	125,21
7	15	3,60	1,06	15	0,54	0,07	19	434,74	180,23
8	10	3,20	1,32	10	0,47	0,08	12	550,83	163,30
13	31	3,29	1,27	31	0,50	0,10	39	482,56	172,35
15	16	3,44	1,21	17	0,53	0,06	22	706,82	205,64
17	6	2,50	1,64	6	0,44	0,09	6	380,83	124,23
18	9	3,33	1,32	9	0,53	0,08	10	426,50	205,51
20	3	3,00	1,73	3	0,50	0,09	3	443,33	183,39
21	15	3,00	1,46	15	0,50	0,08	24	394,38	143,42
23	31	3,90	0,54	31	0,57	0,06	39	503,85	166,67
24	7	2,71	1,60	7	0,46	0,06	7	396,43	125,46
26	3	3,00	1,73	3	0,45	0,05	4	275,00	96,35
27	4	4,00	0,00	4	0,54	0,05	4	258,75	64,86
30	6	2,50	1,64	6	0,47	0,08	9	494,44	180,87
32	28	3,50	1,11	29	0,54	0,08	33	445,15	181,42
35	40	3,93	0,47	40	0,56	0,06	50	525,80	143,61
Ukupno	306	3,49	1,12	309	0,53	0,08	384	482,96	178,50

Pri merenju THI na dan uzimanja sperme najviše prosečne vrednosti za KE utanovljeno je kod bika 2 na 32 uzoraka od $6,63 \pm 2,06$ mL, a najmanje kod bika 19 na 5 uzoraka od $2,30 \pm 0,45$ mL. Najveću prosečnu GE imao je bik 32 na 62 uzoraka od $1859,68 \pm 857,84$ 106/ml, a najmanju bik 37 na 15 uzoraka od $376,67 \pm 198,99$ 106/ml. PSNS se kretala u intervalu od $1,71 \pm 0,49$ za bika 10 na 7 uzoraka do $3,91 \pm 0,38$ za bika 35 na 68 uzoraka, dok su najviše prosečne vrednosti za RS ustanovljene kod bika 35 na 62 uzoraka od $21,71 \pm 3,17$, a najmanje kod bika 27 na 4 uzoraka od $13,50 \pm 2,08$ (Tabela 48).

Tabela 48: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta native sperme po bikovima kada je THI meren na dan uzimanja sperme

	KE			GE			PSNS			RS		
Bik	n	$\bar{X}$	SD	n	$\bar{X}$	SD	n	$\bar{X}$	SD	n	$\bar{X}$	SD
1	77	5,83	1,73	75	1652,67	497,21	73	3,74	0,60	61	20,41	4,22
2	32	6,63	2,06	30	1435,00	483,73	30	3,53	0,90	19	18,05	2,59
3	28	3,25	1,34	23	1721,74	843,54	22	3,55	0,86	16	20,56	4,23
4	27	5,75	2,09	26	726,92	298,74	26	2,15	0,54			
5	31	5,22	1,50	29	1263,79	590,53	29	3,21	1,01	17	18,12	3,94
6	24	5,02	1,22	24	1145,83	477,98	24	3,21	0,78	9	17,22	1,56
7	34	5,56	1,89	32	1589,06	856,07	32	3,47	0,76	21	19,48	3,53
8	43	6,97	2,04	42	1157,86	443,66	42	3,02	0,81	13	17,38	1,71
10	9	3,06	1,67	7	471,43	309,38	7	1,71	0,49			
11	8	3,75	1,04	7	1628,57	636,96	7	3,86	0,90			
13	72	5,05	2,09	66	1687,12	642,37	66	3,68	0,75	50	20,78	2,63
15	65	7,13	3,10	60	1189,17	518,89	60	3,12	0,83	25	17,48	2,89
17	34	3,93	1,56	29	879,31	554,45	28	2,71	0,98	6	17,17	3,31
18	21	3,52	1,53	18	1655,56	716,38	18	3,22	1,06	10	21,00	5,12
19	5	2,30	0,45	5	1260,00	589,92	5	2,60	0,89			
20	19	6,24	1,91	18	838,89	461,63	16	2,50	0,73	3	17,00	4,36
21	33	3,97	1,61	31	1825,81	364,20	31	3,84	0,37	26	20,62	3,13
22	12	3,38	1,65	10	865,00	557,80	10	2,70	0,95			
23	73	5,43	1,79	71	1609,86	533,23	70	3,63	0,66	49	20,33	3,43
24	20	5,45	1,38	20	1190,00	694,83	20	2,90	0,97	7	19,43	4,08
25	29	3,68	1,66	27	1090,74	559,54	25	2,84	0,90	5	17,60	2,88
26	27	3,41	1,36	24	708,33	500,58	23	2,43	1,08	4	16,50	5,07
27	18	3,61	1,83	14	857,14	339,04	14	2,86	0,77	4	13,50	2,08
28	15	4,93	1,70	13	880,77	444,19	13	2,54	0,78			
31	9	3,11	1,88	6	700,00	529,15	6	2,33	0,52			
30	38	5,95	2,22	36	1242,50	551,38	35	3,00	0,73	10	17,90	2,33
32	66	5,00	1,85	62	1859,68	857,84	59	3,64	0,71	45	20,40	2,79
33	16	5,56	1,00	16	987,50	450,00	16	2,88	0,81	4	16,50	4,43
34	16	4,56	1,90	14	964,29	541,52	14	2,64	0,84			
35	71	5,09	1,49	70	1921,43	495,53	68	3,91	0,38	62	21,71	3,17
37	22	4,48	2,19	15	376,67	198,99	15	1,87	0,52			
38	23	3,54	1,39	21	947,62	475,26	20	2,60	0,68			
Ukupno	1017	5,12	2,16	941	1370,95	688,03	924	3,24	0,91	466	19,83	3,62

KE-količina ejakulata; GE-gustina ejakulata; PSNS-pokretljivost spermatozoida native sperme; RS-razređenje sperme

Kada je THI meren na dan uzimanja sperme, najviše prosečne vrednosti za OSNZ utvrđene su kod bikova 25, 27 i 33, na ukupno 10 uzoraka od $4,00 \pm 0,00$, a najmanje kod bika 17, na 6 uzoraka od $2,50 \pm 1,64$. Najveću prosečnu vrednost PSNZ imao je bik 33, na 3 uzoraka od $0,58 \pm 0,10$, a najmanju bik 17, na 6 uzoraka od $0,44 \pm 0,09$, dok se BZD kretao u intervalu od $258,75 \pm 64,86$ za bika 27, na 4 uzoraka do $676,46 \pm 222,15$ za bika 15 na 24 uzoraka.

Tabela 49: Prosečne vrednosti i varijabilnost pokazatelja količine i kvaliteta sperme nakon zamrzavanja po bikovima kada je THI meren na dan uzimanja sperme

	OSNZ			PSNZ			BZD		
Bik	n	$\bar{X}$	SD	n	$\bar{X}$	SD	n	$\bar{X}$	SD
1	44	3,59	1,04	45	0,55	0,08	57	526,93	168,10
2	11	3,73	0,90	11	0,53	0,06	17	508,53	104,86
3	16	3,63	1,02	16	0,52	0,10	17	336,24	133,40
5	15	3,20	1,37	15	0,50	0,06	17	385,00	128,18
6	7	3,14	1,46	7	0,49	0,15	8	367,50	125,21
7	16	3,44	1,21	16	0,51	0,13	21	436,67	191,21
8	11	3,27	1,27	11	0,48	0,08	13	540,00	161,15
13	39	3,28	1,28	39	0,51	0,10	47	479,68	178,61
15	18	3,33	1,28	19	0,52	0,07	24	676,46	222,15
17	6	2,50	1,64	6	0,44	0,09	6	380,83	124,23
18	9	3,33	1,32	9	0,53	0,08	10	426,50	205,51
20	3	3,00	1,73	3	0,50	0,09	3	443,33	183,39
21	16	2,88	1,50	16	0,49	0,08	25	385,20	147,71
23	40	3,83	0,68	39	0,57	0,06	48	514,48	161,70
24	7	2,71	1,60	7	0,46	0,06	7	396,43	125,46
25	3	4,00	0,00	4	0,51	0,03	5	335,00	94,54
26	3	3,00	1,73	3	0,45	0,05	4	275,00	96,35
27	4	4,00	0,00	4	0,54	0,05	4	258,75	64,86
30	7	2,29	1,60	7	0,46	0,07	10	487,50	171,94
32	34	3,41	1,18	35	0,53	0,08	39	446,79	176,98
33	3	4,00	0,00	3	0,58	0,10	4	403,75	192,20
35	52	3,83	0,71	52	0,56	0,06	62	514,76	141,77
Ukupno	364	3,46	1,15	367	0,53	0,08	448	476,50	177,53

OSNZ-ocena kvaliteta sprema nakon zamrzavanja; PSNZ- pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; BZD-broj zamrznutih doza.

Bikovi sa velikim brojem uzoraka ejakulata ($n > 30$) predstavljaju statistički pouzdanu procenu individualnog kvaliteta sperme. Ovi bikovi omogućavaju stabilne srednje vrednosti i standardne devijacije, pa se na osnovu njihovih rezultata može izvesti zaključak o njihovom individualnom uticaju na parametre količine i kvaliteta sperme. Bikovi sa malim brojem uzoraka ($n < 10$) imaju ograničenu reprezentativnost, i kod njih je srednja vrednost osetljivija na ekstremne rezultate. Ovakva varijabilnost u broju uzoraka po biku je očekivana u terenskim studijama.

Podaci u tabelama (tabele 46-49) pokazuju izraženu varijabilnost između bikova, što je vidljivo iz visokih vrednosti standardnih devijacija koje su visoke za većinu pokazatelja, naročito za GE. To ukazuje da su neki bikovi daleko otporniji ili osetljiviji na uslove toplotnog stresa na dan prikupljanja sperme u fazi spermatogeneze. Toplotni stres pokazuje izražen, ali individualno promenljiv uticaj na sve pokazatelje kvaliteta i količine native sperme. Varijabilnost između bikova je visoka, što ukazuje na genetsku i fiziološku raznolikost u reakciji na toplotni stres. Naši rezultati su u skladu sa nalazima Filipčika i sar. (2023), koji su ustanovili značajne razlike u parametarima sperme između pojedinačnih bikova, posebno u količini ejakulata i pokretljivosti

spermatozoida. Ove varijacije ukazuju na značaj selekcije bikova sa optimalnim reproduktivnim karakteristikama za unapređenje uspešnosti veštačkog osemenjavanja.

U istraživanju Suchocki i Szyda. (2015) analizirali su parametre sperme, takođe kod holštajn-frizijske rase. Prosečna količina ejakulata u njihovom istraživanju su bila 4,18 ml, koncentracija spermatozoida $1471,21 \times 10^6$ ml, iako se vrednosti gustine gotovo u potpunosti poklapaju sa rezultatima našim rezultatima, kada je THI meren na početku spermatogeneze $1486,14 \times 10^6$ ml (tabela 46), što daje dodatnu potvrdu verodostojnosti i pouzdanosti prikupljenih podataka, u njihovom istraživanju uočen je niži prosek zapremine ejakulata nego u našoj populaciji. Važno je istaći da i jedno i drugo istraživanje potvrđuju visoku varijabilnost među jedinkama unutar rase.

Na osnovu ovih nalaza može se zaključiti da je važno pratiti i evaluirati parametre sperme na nivou pojedinačnih bikova, kako bi se identifikovali oni sa superiornim reproduktivnim potencijalom. Ovo omogućava efikasniju selekciju i optimizaciju programa veštačkog osemenjavanja, sa ciljem povećanja plodnosti i produktivnosti u govedarskoj proizvodnji.

4. 3. 2. Repitabilitet (ponovljivost) pokazatelja količine i kvaliteta sperme

Utvrđivanje genetskih parametara neophodno je za procenu priplodne vrednosti, efekta selekcije i identifikaciju izvora genetske varijabilnosti. Uspeh selekcije za unapređenje osobina količine i kvaliteta sperme zavisi od njihove genetske varijabilnosti, odnosno od dela varijabilnosti na koji utiču aditivni efekti gena.

Procena genetskih parametara zavisi od prethodne procene komponenti varijanse i u ovom radu je utvrđena pomoću mešovitog statističkog modela koji je uključivao slučajne i fiksne faktore, koji je dobijen procedurom „korak po korak“.

Kao slučajan efekat u model za procenu repitabiliteta, koji predstavlja jedan od važnijih genetskih faktora za osobine koje se ponavljaju, uključen je uticaj bika oca (polusinovi po bikovima-očevima), kojim se procenjuje aditivna genetska varijansa. U ovom istraživanju procene repitabiliteta utvrđene su primenom intraklasne korelacije po bikovima-očevima. Repitabilitet označava udeo utvrđenih razlika u performansu između životinja prouzrokovanih razlikama u realnoj proizvodnoj sposobnosti. Repitabilitet suštinski iskazuje razlike između rezultata merenih performanse životinje u stadiu ili populaciji. Najčešće su vrednosti repitabiliteta veće od vrednosti heritabiliteta i predstavljaju njegovu gornju granicu. Vrednost koeficijenta repitabiliteta se takođe kreće od 0,0 do 1,0. Obzirom na sličnost formula za izračunavanje heritabiliteta i ponovljivosti, vrednost ponovljivosti se, takođe, može povećati: ujednačavanjem faktora okoline, preciznijim merenjima performanse životinja i matematičkim korigovanjem rezultata za poznate uticaje okoline (Đedović, 2015).

Koeficijent repitabiliteta (R) za osobine količine i kvaliteta sperme pre zamrzavanja u ovom istraživanju su se kretale od 0,038 za GE i RS do 0,432 za KE (Tabela 50). U literaturi je prijavljen širok spektar vrednosti koeficijenata repitabiliteta i heritabiliteta. Za zapreminu ejakulata, procene vrednosti u literaturisu varirale su od 0,13 (Lang i sar., 1988) do 0,65 (Ducrocq and Humblot, 1995). Nešto više vrednosti za procenu ponovljivosti ustanovio je Gorobets, (1987) od 0,71 za količinu ejakulata. A najniže vrednosti za količinu ejakulata ustanovio Taylor, (1985) od 0,23. Za koncentraciju spermatozoida – gustinu ejakulata, prosečne vrednosti u literaturi bile su veće nego u našem istraživanju i varirale su od 0,14 (Gredler i sar., 2007) do 0,52, (Mathevon i sar., 1998). U našem istraživanju za osobinu PSNS koeficijent determinacije je

iznosio 0,158. Niže vrednosti za osobine naslednosti za pokretljivost spermatozoida ustanovio je Gredler i sar. (2007) u Austriji za bikove simentalске rase, vrednost od 0,04, dok su autori Druet i sar. (2009) i Diarra i sar. (1997), na bikovima holštajn-frizijske rase ustanovili znatno više vrednosti osobina naslednosti za pokretljivost spermatozoida, od 0,43 i 0,51.

Tabela 50: Repitabilitet i greška repitabiliteta pokazatelja količine i kvaliteta nativne sperme

Pokazatelj	R	Re
KE	0,432	0,015
GE	0,038	0,016
PSNS	0,158	0,0168
RS	0,038	0,034

R-koeficijent repitabiliteta; *Re*- greška koeficijenta repitabiliteta; *KE*-količina ejakulata; *GE*-gustina ejakulata; *PSNS*-pokretljivost spermatozoida nativne sperme; *RS*-razređenje sperme.

Količina ejakulata (KE) pokazuje najveću doslednost kod pojedinačnih bikova i može se smatrati stabilnom i genetski uslovljenom osobinom pogodnom za selekciju. Ostali parametri (GE, PSNS, RS) su pod većim uticajem spoljnih faktora i pokazali su nizak repitabilitet, što znači da bi njihova evaluacija morala biti više puta ponavljana ili kombinovana sa drugim pokazateljima da bi bila korisna.

Koeficijent repitabiliteta (R) za osobine količine i kvaliteta sperme nakon zamrzavanja u ovom istraživanju se kretao od 0,167 za PSNZ do 0,368 za BZD (Tabela 51). Nešto niže vrednosti za osobine naslednosti za broj doza ustanovili su Ducrocq i Humblot (1995) od 0,23 i Stalhammar i sar. (1989) od 0,17.

Tabela 51: Repitabilitet i greška repitabiliteta pokazatelja količine i kvaliteta semena posle zamrzavanja

Pokazatelj	R	Re
OSNZ	0,226	0,043
PSNZ	0,167	0,043
BZD	0,368	0,035

R-koeficijent repitabiliteta; *Re* - greška koeficijenta repitabiliteta; *OSNZ*-ocena kvaliteta sprema nakon zamrzavanja; *PSNZ* - pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; *BZD*-broj zamrznutih doza.

Parametri sperme nakon zamrzavanja imaju niži repitabilitet u poređenju sa onima kod nativne sperme (Tabela 50), što ukazuje na veći uticaj spoljašnjih faktora (npr. manipulacija

semena, zamrzavanje, sezonski uticaji). Međutim, BZD pokazuje obećavajuću stabilnost, dok su OSNZ i PSNZ manje stabilni, ali i dalje korisni kao indikatori u kombinaciji s drugim merama.

Slično našim rezultatima, u istraživanju Boujenane i Boussaq (2013) vrednost repitabiliteta za količinu ejakulata (KE) iznosila je $R = 0,411$, što ukazuje na umereno visok stepen stabilnosti ove osobine kod bikova holštajn rase. Za GE u njihovom radu ustanovljena je vrednost repitabiliteta $R = 0,175$, što je nešto viša vrednost u odnosu na našu $R = 0,038$, ali pokazuje da ova osobina ima relativno nisku ponovljivost i veću varijabilnost. PSNZ takođe je imala višu vrednost repitabiliteta $R = 0,328$ u njihovom istraživanju nego u našem $R = 0,167$, ali je u istom opsegu, što ukazuje na umeren stepen konzistentnosti ove osobine nakon zamrzavanja.

Taylor i sar. (1985) su izvestili niže vrednosti procene ponovljivosti za KE od $R = 0,26$. Ovo može ukazivati na napredak u procedurama merenja, upravljanju bikovima ili bolju genetiku u novijim populacijama.

Pokretljivost sperme nakon zamrzavanja (PSNZ) u istraživanju Wang i sar. (2024) ima repitabilitet ($R = 0,27$), što je više nego u našem istraživanju, $R = 0,167$, ali takođe ukazuje na značajan uticaj sredine, posebno procesa zamrzavanja i odmrzavanja sperme na ovu osobinu.

U istraživanju Argiris i sar., (2018), na 83 holštajn-frizijska bika u Indoneziji, procenjene vrednosti repitabiliteta za BZD iznosile su $R = 0,29$ i $R = 0,47$, respektivno, u dva različita centra za veštačko osemenjavanje. Rezultati našeg istraživanja ($R = 0,368$) nalaze se između vrednosti dobijenih u ova dva centra. U literaturi se retko direktno raspravlja o repitabilnosti BZD, jer se češće akcenat stavlja na kvalitativne parametre semena (pokretljivost, morfologija, vitalnost). Ipak, BZD kao kvantitativni pokazatelj produktivnosti ima visok praktični značaj, posebno u centrima gde je potrebno obezbediti stabilnu i pouzdanu količinu doza za upotrebu ili distribuciju.

4. 3. 3. Fenotipske korelacije osobina količine i kvaliteta sperme bikova

Fenotipske korelacije osobina, čija se povezanost ispituje ukazuju na jačinu i smer njihove međusobne povezanosti. Povezanost između osobina količine i kvaliteta sperme bikova, osim tumačenja jačine povezanosti, nudi nam i mogućnost posrednog poboljšanja pojedinih ispitivanih karakteristika, bez obzira na smer, pod uslovom da je ta povezanost veoma jaka ili potpuna.

Sprovođenje selekcije za istovremeno poboljšanje osobina količine i kvaliteta sperme složen je i kontinuiran proces, samim tim je neophodno voditi računa o tome u kakvim su korelacijama ispitivane osobine, uzimajući u obzir smer i jačinu povezanosti.

Tabela 52: Fenotipske korelacije osobina količine i kvaliteta sperme bikova, kada je THI meren na početku spermatogeneze

Fenotipske korelacije							
	KE	GE	PSNS	BZD	OSNZ	PSNZ	RS
KE	1	0,039	0,076*	0,655**	0,113*	0,078	-0,135**
GE	0,039	1	0,689**	0,223**	0,045	-0,024	0,678**
PSNS	0,076*	0,689**	1	0,070	-0,012	-0,034	0,011
BZD	0,655**	0,223**	0,070	1	0,162**	0,129*	0,312**
OSNZ	0,113*	0,045	-0,012	0,162**	1	0,784**	0,034
PSNZ	0,078	-0,024	-0,034	0,129*	0,784**	1	-0,017
RS	-0,135**	0,678**	0,011	0,312**	0,034	-0,017	1

KE-količina ejakulata; GE-gustina ejakulata; PSNS-pokretljivost spermatozoida native sperme; BZD-broj zamrznutih doza; OSNZ-ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja; PSNZ-pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; RS-razređenje sperme; ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$).

Fenotipske korelacije osobina količine i kvaliteta sperme bikova, kada je THI meren na početku spermatogeneze u ovom istraživanju, su pokazale sledeće: KE je bila u pozitivnoj korelaciji sa BZD, na nivou značajnosti ($p < 0,01$), i PSNS i OSNZ, na nivou značajnosti ($p < 0,05$), ali u negativnoj korelaciji sa RS, na nivou značajnosti ($p < 0,05$). GE je bila u pozitivnoj korelaciji sa PSNS, BZD i RS, na nivou značajnosti ($p < 0,01$). BZD je bio u pozitivnoj korelaciji sa OSNZ i RS na nivou značajnosti ($p < 0,01$), PSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,05$). OSNZ je bila u pozitivnoj korelaciji sa PSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,01$) (Tabela 52).

Tabela 53: Fenotipske korelacije osobina količine i kvaliteta sperme bikova, kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Korelacije							
	KE	GE	PSNS	BZD	OSNZ	PSNZ	RS
KE	1	0,102**	0,115**	0,655**	0,138**	0,109*	-0,098*
GE	0,102**	1	0,743**	0,249**	0,058	-0,006	0,647**
PSNS	0,115**	0,743**	1	0,072	0,053	0,023	0,018
BZD	0,655**	0,249**	0,072	1	0,202**	0,176**	0,304**
OSNZ	0,138**	0,058	0,053	0,202**	1	0,788**	0,057
PSNZ	0,109*	-0,006	0,023	0,176**	0,788**	1	0,002
RS	-0,098*	0,647**	0,018	0,304**	0,057	0,002	1

KE-količina ejakulata; GE-gustina ejakulata; PSNS-pokretljivost spermatozoida native sperme; BZD-broj zamrznutih doza; OSNZ-ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja; PSNZ-pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja; RS-razređenje sperme; ** - statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,01$); * - statistički značajan uticaj ($p < 0,05$)

Fenotipske korelacije osobina količine i kvaliteta sperme bikova, kada je THI meren na dan uzimanja sperme u ovom istraživanju su pokazale: KE je bila u pozitivnoj korelaciji sa GE, PSNS, BZD i OSNZ, na nivou značajnosti ($p < 0,01$), i PSNZ i na nivou značajnosti ($p < 0,05$), dok je bila u negativnoj korelaciji sa RS na nivou značajnosti ($0,05$). GE je bila u pozitivnoj korelaciji sa PSNS, BZD i RS, na nivou značajnosti ($p < 0,01$). BZD je bio u pozitivnoj korelaciji sa OSNZ, PSNZ i RS, na nivou značajnosti ($p < 0,01$). OSNZ je bila u pozitivnoj korelaciji sa PSNZ, na nivou značajnosti ($p < 0,01$) (Tabela 53).

U ovoj studiji, fenotipske korelacije između količinskih i kvalitativnih osobina sperme bikova pokazuju značajne pozitivne veze, naročito između: Količine ejakulata (KE) i broja zamrznutih doza (BZD) što je u skladu sa nalazima Olsen i sar., (2015), koji su takođe izvestili o pozitivnim korelacijama između volumena ejakulata i ukupne proizvodnje sperme. Suprotno našem istraživanju, u radu Burren i sar. (2019), zabeležena je negativna korelacija između volumena ejakulata i koncentracije sperme, ova razlika u pravcu korelacija između populacija može biti rezultat različitih protokola razređenja i metoda obrade ejakulata, kao i efekta THI na spermatogenezu.

Gustina ejakulata (GE) je pokazala visoko značajne pozitivne korelacije sa pokretljivošću nativne sperme (PSNS) i sa razređenjem sperme (RS), što je u saglasnosti sa rezultatima Gebreyesus i sar., (2021), koji su izvestili o pozitivnim genetskim korelacijama između koncentracije sperme i pokretljivosti, kao i pozitivnom uticaju na broj uspešnih osemenjavanja.

Pokretljivost nakon zamrzavanja (PSNZ) je snažno korelirala sa ocenom sperme nakon zamrzavanja (OSNZ), što je očekivano jer se obe osobine odnose na spermu nakon zamrzavanja i funkcionalnost spermatozoida.

Ove vrednosti su u skladu sa brojnim studijama u reproduktivnoj genetici i biotehnologiji koje pokazuju da su parametri količine i kvaliteta sperme često međusobno povezani. Svrha utvrđivanja korelacija među osobinama (fenotipskih i genetskih) u kontekstu selekcije na više osobina je višestruka i ključno važna. Pozitivne korelacije znače da se poboljšanje jedne osobine prati i poboljšanjem druge, dok negativne korelacije mogu izazvati antagonističke efekte, što zahteva pažljivo upravljanje u programu selekcije (Vleck, 1993). Takođe, analiza korelacija pomaže u identifikaciji kompromisa između osobina i postavljanju realnih uzgojnih ciljeva koji će dovesti do održivog unapređenja u populaciji (Mrode i Thompson, 2014). Kod osobina vezanih za kvalitet i količinu sperme, kao što su pokazali Burren i sar., (2019) i Olsen i sar., (2009), razumijevanje odnosa između različitih parametara sperme od ključne je važnosti za selekciju bikova sa optimalnim reproduktivnim performansama.

U bliskoj budućnosti u Evropi se očekuje povećanje prosečnih temperatura vazduha za 1,5-3 °C (Matović i sar., 2017), dok se u Srbiji očekuje povećanje količine padavina na severu i znatno povećanje broja tropskih dana (Stričević i sar., 2018). Temperaturnom stresu će biti izložen sav živi svet, uticaće na sve oblasti života i rada, pa time i na poljoprivredu i na stočarstvo.

Na osnovu dobijenih rezultata, kao i analizom rezultata drugih autora može se konsatovati da određene rase goveda (koje potiču od Bos Indicus govečeta) lakše podnose temperaturni stres, ali i u okviru svake rase postoje jedinke koje bolje podnose visoke temperature, i na njih treba obratiti pažnju prilikom odabira bikova za priplod. Goveda se znojenjem i frekventnijim disanjem, konzumiranjem većih količina vode, ubrzanjem protoka krvi bore protiv visokih temperatura. Sve

ovo je teško postići, posebno kada se zna da je za normalnu spermatogenezu potrebno da temperatura u skrotumu bude niža 2-6 °C u odnosu na telesnu temperaturu (Morell, 2020).

Toplotni stres deluje i na količinu i na kvalitet sperme, na spermatogenezu, maturaciju spermatozoida, ali i na sposobnost zamrzavanja i kvalitet semena posle zamrzavanja kao i na rani razvoj embriona i embrionalnu smrtnost.

U ovom istraživanju je utvrđeno da temperaturni stres nije uticao na količinu ejakulata kada je on meren na početku spermatogeneze ($p>0,05$), što se može, delimično, objasniti činjenicom da su u tom periodu proizvodili oni bikovi koji su davali kvalitetnije seme, tj. one jedinice koje su bile manje podložne temperaturnom stresu, a to su uglavnom bili bikovi koji su bili duže u eksploataciji, odnosno stariji bikovi. S druge strane, THI meren na dan uzimanja sperme je visoko značajno uticao na količinu ejakulata ($p<0,01$), što je u skladu sa istraživanjima drugih autora, a kod nas se može tumačiti time što je i tokom proleća i jeseni bilo dana sa visokim THI, a tada je većina bikova izvođena na uzimanje sperme.

U skladu sa rezultatima većine autora, ustanovljen je značajan uticaj toplotnog stresa ($p<0,05$) na gustinu ejakulata na početku spermatogeneze i na dan uzimanja sperme.

Nažalost, u Centru za reprodukciju i transfer embriona, nisu rađanje analize morfologije, kao u istraživanjima drugih autora. Iako su najmanje vrednosti za PSNS ustanovljene u vreme visokog temperaturnog stresa, kada je THI meren na dan uzimanja sperme, uticaj THI nije bio značajan ($p>0,05$).

BZD, je pre svega, u funkciji KE i GE, pod uslovom da su ispunjeni i ostali uslovi kvaliteta sperme. Najmanji BZD u ovom istraživanju je dobijen u uslovima THI3, kada je THI meren na početku spermatogeneze ($p<0,01$), a tada je ustanovljena najmanja KE i manja GE, što je blisko istraživanjima Al-Kanaan i sar. (2015).

U ovom istraživanju najveća KE je ustanovljena kod najstarijih bikova, što je u skladu sa istraživanjima drugih autora, ali su oni imali i najveću GE, što u drugim istraživanjima nije slučaj (Prathap i sar., 2017; Teixeira i sar., 2011). Razlog ovome može biti u činjenici da su u grupi starijih bikova bili oni koji su prošli selekciju prema kvalitetu i količini sperme, dok su u mlađim grupama bili bikovi čije se seme kolektiralo i čekali se rezultati bioloških testova. Kod starijih bikova od 3-5 godina znatno veću količinu ejakulata, pokretljivost spermatozoida i broj doza u odnosu na mlađe i starije bikove ustanovili su Ahmad i sar. (2003), što je u skladu i sa našim istraživanjem.

Sami pokazatelji količine i kvaliteta native sperme i sperme nakon zamrzavanja znatno su varirali od bika do bika, što se može tumačiti individualnim uticajem svakog genotipa. Ipak, repetabiliteti ispitivanih osobina su bili niski do srednji, što je još jedan, posredni, dokaz da na ispoljenost ovih osobina veći značaj imaju fiziološki i spoljni, nego genetski faktori. Tome u prilog idu i utvrđeni podaci o fenotipskim korelacijama ispitivanih osobina.

5. ZAKLJUČAK

Dugogodišnja praksa, podupreta naučnim i stručnim analizama, pokazala je da se osnova uspešne, visoke i profitabilne proizvodnje mleka u najvećoj meri vezuje za reprodukciju goveda. Uspesna reprodukcija omogućava povećanje intenziteta selekcije, veću frekvenciju krava u ascendentnom delu laktacije, optimalizuje broj dana u muži, smanjuje troškove ishrane i rada po jedinici proizvoda, podiže nivo mlečnosti krava pred zasušenjem i sl. Bikovi, kao nosioci masovne selekcije, imaju svoju bitnu ulogu u reprodukciji, a to im omogućava veliki broj potomaka koje mogu da ostvare u svakoj populaciji. Osim toga, poseban značaj je i u sprečavanju širenja polnih i drugih infektivnih bolesti, kao i naslednih anomalija. Sve ovo je uticalo na to da se vrše stalna naučna istraživanja, svih faktora koji utiču na reprodukciju, a posebno na količinu i kvalitet sperme bikova. S druge strane, klimatske promene, čiji smo svedoci, a i aktivni učesnici, afektiraju sav živi svet na našoj planeti, pri čemu su preživari, zbog sistema varenja hrane, pod posebnim pritiskom, jer suša znatno smanjuje kvalitet i količinu kabaste hrane.

Navedene činjenice su doprinele da i ovo istraživanje u osnovi prikaže pokušaj da se na još jedan način doprinese poboljšanju reprodukcije goveda, pre svega dobijanjem što veće količine kvalitetnog semena. Osnovni ciljevi ovog istraživanja bili su:

- da se primenom optimalnih matematičko-statističkih modela utvrde najvažniji uticaji na količinu i kvalitet native sperme i definišu periodi tokom godine kada je proizvodnja sperme pod izraženim negativnim uticajem toplotnog stresa;
- da se primenom toplotno humidnog indeksa (THI) utvrdi uticaj toplotnog stresa na proizvodnju i kvalitet semena bikova;
- da rezultati istraživanja doprinesu boljem kvalitetu native i duboko zamrznutog semena tokom cele godine.

Na osnovu rezultata sprovedenog istraživanja uticaja genetskih i negenetskih faktora na proizvodnju i kvalitet semena bikova holštajn – frizijske rase u uslovima toplotnog stresa, mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Analizirani su podaci 32 holštajn-frizijska bika koji su proizvodili seme u periodu od 2017. do 2019. god. u Centru za reprodukciju i transfer embriona, Padinska Skela - Beograd, Srbija. U istraživanju su analizirani podaci 2017 ejakulata, za koje su utvrđeni pokazatelji: količina ejakulata (KE), gustina ejakulata (GE), razređenje sperme (RS), pokretljivost spermatozoida native sperme (PSNS), broj zamrznutih doza (BZD), ocena kvaliteta sperme nakon zamrzavanja (OSNZ), pokretljivost spermatozoida nakon zamrzavanja (PSNZ).
- Statistička obrada podataka je vršena programskim paketom IBM SPSS Statistika za Windows, verzija 25.0 objavljena 2017 godine, primenom fiksnih i mešovitih modela, višefaktorijalne analize varijanse po slučajnom planu, do kojih se došlo postupkom korak po korak.
- Podaci o temperaturi i vlažnosti vazduha su dobijeni merenjem u objektu gde su bikovi bili smešteni. Senzori su bili smešteni u uređajima za automatsku registraciju mikroklimatskih parametara, tj. u logeru podataka AMTAST, AMT-116. Merenja su vršena na svakih 60 minuta tokom trajanja istraživanja. Podaci o temperaturi i relativnoj vlažnosti vazduha iskorišćeni su za procenu uticaja toplotnog stresa (THI) u vreme početka spermatogeneze i u vreme prikupljanja sperme.

- Prosečne vrednosti temperature po godinama su se kretale od $15,19 \pm 8,26$ °C u 2019. do $16,62 \pm 8,61$ °C u 2017. po sezonama su iznosile od $4,81 \pm 3,44$ °C za vreme zime, do $25,02 \pm 3,75$ °C, za vreme leta.
- Prosečne vrednosti relativne vlažnosti vazduha po godinama su imale vrednosti od $64,95 \pm 14,14$ % u 2019. godini do $70,88 \pm 12,53$ % u 2018. godini, a po sezonama od $65,91 \pm 13,06$ % za vreme leta do $72,24 \pm 15,17$ % za vreme zimske sezone.
- Prosečne vrednosti i varijabilnost temperaturno humidnog indeksa (THI) merenog na početku spermatogeneze posmatrano po godinama kretale su se u intervalu od $48,47 \pm 11,67$ u 2018. godini do $59,75 \pm 8,60$ u 2019. godini, a po sezonama od $43,13 \pm 5,52$ tokom zimske sezone do $75,32 \pm 4,74$ za vreme letnje sezone. Prosečna vrednost THI bila je 50,76 tokom tri godine istraživanja. Prosečna vrednost THI tokom letnjeg perioda od 75,32, bila viša od granične vrednosti od 72.
- Prosečne vrednosti i varijabilnost temperaturno humidnog indeksa (THI) merenog na dan uzimanja sperme posmatrano po godinama su se kretale u intervalu od $48,50 \pm 11,67$ u 2018. godini do $59,75 \pm 8,60$ u 2019. godini, a po sezonama od $43,12 \pm 5,51$ za zimsku sezonu do $74,61 \pm 3,76$ za vreme letnje sezone.
- Značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na početku spermatogeneze, pokazali su da je jačina toplotnog stresa značajno uticala ($p < 0,05$) na GE, PSNS i RS, veoma značajno ($p < 0,01$) na BZD, dok nije značajno uticala ($p > 0,05$) na KE, OSNZ i PSNZ. Godina je visoko značajno uticala ($p < 0,01$) na KE, RS, OSNZ i BZD, dok nije značajno uticala ($p > 0,05$) na GE, PSNS, i PSNZ. Sezona je značajno uticala ($p < 0,05$) na KE i RS, veoma značajno ($p < 0,01$) na BZD, dok sezona nije značajno uticala ($p > 0,05$) na KE, PSNS, OSNZ i PSNZ. Starost bika značajno je uticala ($p < 0,05$) na OSNZ, veoma značajno ($p < 0,01$) na KE, PSNS i BZD, dok starost bika nije značajno uticala ($p > 0,05$) na GE, RS i PSNZ.
- Značajnost ispitivanih uticaja kada je THI meren na dan uzimanja sperme, pokazali su da jačina toplotnog stresa veoma značajno uticala ($p < 0,01$) na KE i GE, dok nije značajno uticala na PSNS, RS, OSNZ, PSNZ i BZD. Godina je značajno uticala ($p < 0,05$) na GE, veoma značajno ($p < 0,01$) na KE, PSNS, RS, OSNZ i BZD, dok godina nije značajno uticala ($p > 0,05$) na PSNZ. Sezona je značajno uticala ($p < 0,05$) na GE, dok nije značajno uticala ($p > 0,05$) na KE, PSNS, RS, OSNZ, PSNZ i BZD. Starost bika značajno je uticala ($p < 0,05$) na GE, OSNZ i PSNZ, veoma značajno ($p < 0,01$) na KE, PSNS i BZD, dok nije značajno uticala ($p > 0,05$) samo na RS.
- Prosečne vrednosti količine i kvaliteta sperme, na početku spermatogeneze su iznosile: za KE $5,33 \pm 2,18$ ml, za GE $1486,14 \pm 669,62 \times 106/\text{ml}$, za PSNS $3,42 \pm 0,83$, za RS $1:19,76 \pm 3,49$, za OSNZ $3,49 \pm 1,12$, PSNZ $0,53 \pm 0,08$ i za BZD $482,96 \pm 178,50$.
- Prosečne vrednosti količine i kvaliteta sperme, na dan uzimanja sperme su iznosile: za KE $5,115 \pm 2,16$ ml, za GE $1370,95 \pm 688,03 \times 106/\text{ml}$, za PSNS $3,24 \pm 0,91$, za RS $1:19,83 \pm 3,62$, za OSNZ $3,46 \pm 1,15$, PSNZ $0,53 \pm 0,08$ i za BZD $476,50 \pm 177,53$.
- U ovom istraživanju toplotni stres nije uticao na KE kada je meren na početku spermatogeneze ($p > 0,05$) što se može, delimično, objasniti činjenicom da su u tom periodu proizvodili oni bikovi koji su davali kvalitetniju spemu, tj. one jedinice koje su bile manje podložne toplotnom stresu, a to su uglavnom bili bikovi koji su bili duže u eksploataciji, odnosno stariji bikovi. S druge strane, jačina toplotnog stresa merena na dan uzimanja sperme je visoko značajno uticala na KE ($p < 0,01$), što je u skladu sa istraživanjima drugih

autora, a kod nas se može tumačiti time da je tokom proleća i jeseni, bilo dana sa visokim THI, a tada je većina bikova izvođenja na uzimanje sperme.

- Kada je u pitanju uticaj bika na pokazatelje kvaliteta i količine nativne sperme i sperme nakon zamrzavanja, u uslovima kada je THI meren na početku spermatogeneze, uticaj bika je bio visokoznačajan ($p < 0,01$) na ispoljavanje svih pokazatelja (KE, GE, PSNS, RS, OSNZ, PSNZ i BZD). Takođe fiksni uticaj bika pokazao je visoko značajan uticaj ($p < 0,01$) na sve osobine nativne sperme (KE, GE, PSNS, RS) i sperme nakon zamrzavanja (SNZ, PSNZ i BZD), kada je THI meren na dan uzimanja sperme.
- Kao slučajan efekat u model za procenu repitabiliteta uključen je uticaj očeva bikova, kojim se procenjuje aditivna genetska varijansa. U ovom istraživanju su procenjene vrednosti repitabiliteta koje su imale sledeće vrednosti: za KE $0,431 \pm 0,015$ ($R \pm SR$), za GE $0,038 \pm 0,016$, za PSNZ $0,157 \pm 0,016$, za RS $0,038 \pm 0,034$, za OSNZ $0,226 \pm 0,043$, za PSNS $0,167 \pm 0,043$ i BZD $0,368 \pm 0,035$.
- Fenotipske korelacije osobina količine i kvaliteta sperme bikova, kada je THI meren na početku spermatogeneze, u ovom istraživanju su pokazale: KE je bila u pozitivnoj korelaciji sa BZD, na nivou značajnosti ($p < 0,01$), PSNS i OSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,05$), dok je KE bila u negativnoj korelaciji sa RS na nivou značajnosti ($p < 0,05$). GE je bila u pozitivnoj korelaciji sa PSNS, BZD i RS na nivou značajnosti ($p < 0,01$). BZD je bio u pozitivnoj korelaciji sa OSNZ i RS na nivou značajnosti ($p < 0,01$), PSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,05$). OSNZ je bila u pozitivnoj korelaciji sa PSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,01$).
- Fenotipske korelacije osobina količine i kvaliteta sperme bikova, kada je THI meren na dan uzimanja sperme u ovom istraživanju su pokazale: KE je bila u pozitivnoj korelaciji sa GE, PSNS, BZD i OSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,01$), PSNZ i na nivou značajnosti ($p < 0,05$), dok je KE bila u negativnoj korelaciji sa RS na nivou značajnosti ($0,05$). GE je bila u pozitivnoj korelaciji sa PSNS, BZD i RS na nivou značajnosti ($p < 0,01$). BZD je bio u pozitivnoj korelaciji sa OSNZ, PSNZ i RS na nivou značajnosti ($p < 0,01$). OSNZ je bila u pozitivnoj korelaciji sa PSNZ na nivou značajnosti ($p < 0,01$).

Sprovedeno istraživanje može potvrditi primenu THI kao indikatora nivoa toplotnog stresa kod goveda. U vezi sa tim, dodatno mogu se pretpostaviti mogući gubici u proizvodnji sperme tokom leta. Tako procenjeni nivo smanjenja količine i kvaliteta sperme kod goveda u uslovima toplotnog stresa bi se mogao upotrebiti kao potencijalni selekcijski kriterijum budućih odgajivačkih programa za goveda u Republici Srbiji, pri čemu se mora voditi računa da su naslednost i ponovljivost osobina sperme u uslovima toplotnog stresa niska, čime se očekivani selekcijski efekat umanjuje, te je potreban veći broj generacija da bi se postigao željeni genetski napredak.

Određena odstupanja od literaturnih podataka se moraju, pre svega, potražiti u činjenici da zbog veličine Centra za reprodukciju, njegove namene i tržištu koje je snabdevalo, nije bilo potrebe za većom proizvodnjom sperme, pa se zbog toga tokom letnjih meseci sperma nije uzimala od svih bikova, već, uglavnom, onih koji su imali dobar kvalitet sperme u prethodnom periodu. Pored toga, postoji uočljiv trend da visoka temperatura i vlažnost vazduha nepovoljno utiču i na spermatogenezu i na količinu i kvalitet sperme. Priprema bikova za uzimanje sperme u nepovoljnijim temperaturnim uslovima, odabir jedinki koje su tolerantnije na visoke temperature, klimatizacija objekata, ali i izostanak uzimanja ili produženje intervala između uzimanja sperme, mogu biti deo rešenja, koja neće samo poboljšati kvalitet i količinu sperme, već i oplodnju,

embriogenezu a samim tim i bolje reproduktivne parametre, kao i uopšteno uticati na povećanje govedarske proizvodnje.

6. LITERATURA

1. Ahmad M., Asmat M. T., Rehman N. U. and Khan M. Z. (2003): Semen characteristics of Sahiwal bulls in relation to age and season. *Pakistan Veterinary Journal* 23:202–06.
2. Akyuz A., Boyaci S. and Cayli A. (2010): Determination of critical period for dairy cows using temperature humidity index. *J Anim Vet Adv* 9(13):1824–1827.
3. Al-Kanaan A., Koning S. and Beugemann K. (2015): Effects of heat stress on semen characteristics of Holstein bulls estimated on a continuous phenotypic and genetic scale. *Livestock Science* 177, DOI: 10.1016/j.livsci.2015.04.003.
4. Allen J. D., Hall L. W., Collier R. J., Smith J. F. (2015): Effect of core body temperature, time of day, and climate conditions on behavioral patterns of lactating dairy cows experiencing mild to moderate heat stress. *J Dairy Sci* 98:118–127.
5. Alragubi S. M. (2015): Factors affecting on semen production in Friesian bulls in Libya. *Int. J. Biopharm.*, 6(1): 32–36.
6. Anderson S. D., Bradford B. J., Harner J. P., Tucker C. B., Choi C. Y., Allen J. D., Hall L. W., Rungruang S., Collier R. J. and Smith F. J. (2013): Effects of adjustable and stationary fans with misters on core body temperature and lying behavior of lactating dairy cows in a semiarid climate. *J Dairy Sci.* 96:4738–4750.
7. Argov-argaman N., Mahgrefthe K., Zeron Y. and Roth Z. (2013): Season-induced variation of lipid composition is associated with semen quality in Holstein bulls. *Reproduction*, 145(5): 479–489.
8. Arias R. A. and Mader T. L. (2011): Environmental factors affecting daily water intake on cattle finished in feedlots. *J. Anim. Sci.*, 89, 245–251.
9. Associated Press. (2019): Thousands of Cows Die in California Heat Wave; Disposing Them Becomes a Problem. Available online: <https://www.latimes.com/local/lanow/la-me-cattle-deaths-20170708-story.html>.
10. Ball P. J. H. and Peters A. R. (2004): *Reproduction in cattle*. 3th ed., London, UK: Wiley-Blackwell.
11. Baumgard L. H. and Rhoads R. P. (2012a): Ruminant Nutrition Symposium: Ruminant Production and Metabolic Responses to Heat Stress. *J Anim Sci.* 90:1855–65.
12. Baumgard L. H. and Rhoads R. P. (2012b): The Effects of Hyperthermia on Nutrient Partitioning. Available online: <https://www.sid.ir/En/Journal/ViewPaper.aspx?ID=352520>.
13. Baumgard L. H. and Rhoads R. P. (2013): Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. *Annual Review of Animal Biosciences*, 1: 311-337.
14. Bearden H. J. and Fuquay J. W. (1997): *Applied animal reproduction*. (3rd ed) Prentice Hall. Englewood Cliff.
15. Beatty D. T., Barnes A., Taylor E. and Maloney S. K. (2008): Do changes in feed intake or ambient temperature cause changes in cattle rumen temperature relative to core temperature? *J. Therm. Biol*, 33, 12–19.
16. Beede D. K. and Collier R.J. (1986): Potential Nutritional Strategies for Intensively Managed Cattle during Thermal Stress. *J. Anim. Sci.* 1986, 62, 543–554.
17. Belić B., Cincović M. R., Vranješ A. P., Pejanović R. i Krajnović M. (2011): Metaboličke promjene i iskorištavanje metabolita u proizvodnji mlijeka kod krava u toplinskom stresu. *Mljekarstvo* 61 (4), 309-318.

18. Beran J., Stadnik L., Bezdiček J., Louda F., Čitek J. and Ducháček J. (2012). Effect of sire and extender on sperm motility and share of live or dead sperm in bulls' fresh ejaculate and in AI doses after thawing. *Arch. Anim. Breed., Arch. Tier.*, 55(3): 207–218.
19. Beran J., Stadnik L., Ducháček J., Toušova R., Louda F. and Štolic L. (2011): Effect of bulls breed, age and body conditions score on quantitative and qualitative traits of their semen. *Acta Univ. Agric. et Silv. Mendel. Brun.*, 59(6): 37–34.
20. Berman A. J. (2005): Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. *J. Anim. Sci.* 83:1377-1384.
21. Bernabucci U., Biffani S., Buggiotti L., Vitali A., Lacetera N. and Nardone A. (2014): The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle, *Journal of Dairy Science*, Volume 97, Issue 1, Pages 471-486, ISSN 0022-0302, <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6611>.
22. Berry D. P., Evans R. D. and McParland S. (2011): Evaluation of bull fertility in dairy and beef cattle using cow field data. *Theriogenology* 75:172–181.
23. Berry D. P., Wall E. and Pryce J. E. (2014); Genetics and genomics of reproductive performance in dairy and beef cattle. *Animal* 8(Suppl. 1):105–121. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000743>.
24. Bhawe K. G., Jawahar K. T. P., Kumarasamy P., Sivakumar T., Joseph C., Shirsath T., Deshmukh P. and Venkataramanan R. (2020): Genetic and non-genetic factors affecting semen production and quality characteristics of Gir cattle breed under semi-arid climate. *Veterinary World*, EISSN: 2231-0916 Available at www.veterinaryworld.org/Vol.13/August-2020/32.pdf.
25. Blackshaw J. K. and Blackshaw A.W. (1994): Heat stress in cattle and the effect of shade on production and behavior: A review. *Anim. Prod. Sci.*, 34: 285-295.
26. Bogdanović V., Đedović R., Perišić P., Stanojević D., Topisirović G., Petrović D. M. and Mijić P. (2016): Monthly and daily variation of temperature-humidity index (thi) on dairy cattle farms. *Proceeding of the International Symposium on Animal Science*. Belgrade, November, 24-25th, pp. 25-31.
27. Bohmanova J., Misztal I. and Cole J.B. (2007): Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.*, 90: 1947-1956.
28. Boujenane I. and Boussaïd K. (2013): Environmental effects and repeatability estimates for sperm production and semen quality of Holstein bulls, *Arch. Anim. Breed.*, 56, 971–979, <https://doi.org/10.7482/0003-9438-56-098>, 2013.
29. Bouraoui R., Lahmar M., Majdoub A., Djemali M. and Belyea R. (2002): The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Animal Research*, 51(6): 479-491.
30. Bourdon R. M. (2000): *Understanding Animal Breeding*. Prentice-Hall, Inc.
31. Brito L. F. C., Silva A. E. D., Rodrigues L. H., Vieira F. V., Deragon L. A. G. and Kastelic J. P. (2002): Effects of environmental factors, age and genotype on sperm production and semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* AI bulls in Brazil. *Animal Reproduction Science*. 70: 181-190. doi: 10.1016/s0378-4320(02)00009-x.
32. Brouček J., Novák P., Vokřálová J., Šoch M., Kišac P. and Uhrinča M. (2009): Effect of high temperature on milk production of cows from freestall housing with natural ventilation. *Slovak J Anim Sci* 42(4):167–173.
33. Brown T. M., Eigenberg R. A., Nienaber J. A. and Hahn G. L. (2005): Dynamic Response Indicators of Heat Stress in Shaded and Non-shaded Feedlot Cattle, Part 1: Analyses of Indicators. *Biosyst. Eng*, 90, 451–462.

34. Brown T. M., Nienaber J. A., Eigenberg R. A., Hahn G. L. and Freetly H. (2003): Thermoregulatory responses of feeder cattle. *J. Therm. Biol.* 28, 149–157.
35. Brown T. M., Nienaber J. A., Eigenberg R. A., Mader T. L., Morrow J. L. and Dailey J. W. (2006): Comparison of heat tolerance of feedlot heifers of different breeds. *Livest. Sci.* 105, 19–26.
36. Brugemann K., Gernand E., Borstel U. K. and König S. (2012): Defining and evaluating heat stress thresholds in different dairy cow production systems. *Archiv Tierzucht* 551, 13–24, ISSN 0003-9438 Leibniz Institute for Farm Animal Biology, Dummerstorf, Germany.
37. Burren A., Joerg H., Erbe M., Gilmour A. R., Witschi U. and Schmitz-Hsu F. (2019): Genetic parameters for semen production traits in Swiss dairy bulls. *Reprod Domest Anim.* 2019 Sep;54(9):1177-1181. doi: 10.1111/rda.13492. Epub 2019 Jun 28. PMID: 31206856.
38. Butler M. L., Bormann M. J., Weaver R. L., Grieger D. M., and Rolf M. M. (2019): Selection for bull fertility: a review, *Translational Animal Science*, Volume 4, Issue 1, January 2020, Pages 423–441, <https://doi.org/10.1093/tas/txz174>.
39. Capela L., Leites I., Romao R., 4 Lopes-da-Costa L. and Lino Neto Pereira R. M. (2022): Impact of Heat Stress on Bovine Sperm Quality and Competence. *Animals* 2022, 12, 975. <https://doi.org/10.3390/ani12080975>.
40. Carabano M. J., Bachagha K., Ramon M. and Diaz C. (2014): Modeling heat stress effect on Holstein cows under hot and dry conditions: selection tools. *Journal of Dairy Science* 97:7889–7904. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8023>.
41. Carabano M. J., Díaz C., Ugarte C. and Serrano M. (2007): Exploring the use of random regression models with legendre polynomials to analyze measures of volume of ejaculate in Holstein bulls. *J. Dairy Sci.* 90, 1044–1057.
42. Carter B. H., Friend T. H., Sawyer J. A., Garey S. M., Alexander M. B., Carter M. J. and Tomaszewski M. A. (2011): Effect of feed-bunk sprinklers on attendance at unshaded feed bunks in drylot dairies. *Prof Anim Sci* 27: 127–132.
43. Chikhaliya P. S., Ahlawat A. R., Solanki G. S., Raval R. J., Vala K. B. and Verma, A. D. (2018): Physical seminal attributes of Gir bull semen. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 7:1152-1159. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.707.139>.
44. Cincović M. R., Majkić M., Spasojević M., Hristov S., Stanković B., Nakov D., Nikolić S. i Stanojević S. (2023): Heat stress of dairy cows in Serbia (Review). *Acta Agriculturae Serbica*, 28 (56), 107–125.
45. Cincović M. R., Belić B., Toholj B., Radović I. i Vidović B. (2010): Uticaj vrednosti THI-indeksa u različitim periodima laktacije na kvalitet mleka i karakteristike laktacione krive. *Journal of Agricultural Sciences* Vol. 55, No. 3 ,Pages 235-241.
46. Cojkic A., Niazi A. and Mprrell J. M. (2024): Metagenomic identification of bull semen microbiota in different seasons. *Animal Reproduction Science*. Volume 268, 2024, 107569, ISSN 0378-4320.
47. Collier R. J., Dahl G. E. and Van Baale M. J. (2006): Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89, 1244-1253.
48. Contri A., Valorz ., Faustini M., Wegher L. and Carluccio A. (2010): Effect of semen preparation on casa motility results in cryopreserved bull spermatozoa, *Theriogenology*, Volume 74, Issue 3, 2010, Pages 424-435, ISSN 0093-691X, <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.02.025>.
49. Cook N. B., Mentink R. L., Bennett T. B. and Burgi K. (2007): The effect of heat stress and lameness on time budgets of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 90:1674–1682.

50. D'Andre H. C., Kugonza D., Elyse A., Claire I., Vincent N., Celestin M., Maximillian M. Tiba M., Pascal N., Marie N., Christine K. and Daphrose G. (2017): Influence of breed, season and age on quality bovine semen used for artificial insemination. *International journal of livestock production*. 8. 72-78. 10.5897/IJLP2017.0368.
51. Das S., Sana D., Gupta T., Chowdhury S., Chakraborti A., Biswas J. and Sarkar S. (2017): Seasonal variation in semen production parameters of Gir bulls reared under tropical climate. *Indian Journal of Animal Reproduction (IJAR)* 38:49-50.
52. De Rensis F., Garcia-Ispuerto I. and López-Gatius F. (2015): Seasonal heat stress: Clinical implications and hormone treatments for the fertility of dairy cows. *Theriogenology* 84 (5), 659-666.
53. DeJarnette J. M., Marshal C. E., Lenz R. W., Monke D. R., Ayars W. H. and Sattler C. G. (2004): Sustaining the fertility of artificially inseminated dairy cattle: The role of the artificial insemination industry. *J. Dairy Sci.* 87(E-Suppl.):93–104. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70065-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70065-X).
54. Den Daas N. (1992): Laboratory measurement of semen characteristics. *Anim Reprod. Sei.* 28: 87-94.
55. Dhami A. J., Suthar V. S., Chaudhari D. V. and Hadiya K. K. (2021): Effect of Heat Stress on Sperm Production, Oxidative Markers and their Association in Native Breeding Bulls. *Ind J Vet Sci and Biotech* 17 (1): 39-44, doi: 10.21887/ijvsbt.17.1.10.
56. Diarra M. S., Paré J. P. and Roy G. (1997): Genetic and environmental factors affecting semen quality of young Holstein bulls. *Can. J. Anim. Sci.* 77, 77–85.
57. Dikmen S. and Hansen P. J. (2009): Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? *J. Dairy Sci.* 92:109–116, doi:10.3168/jds.2008-1370.
58. Dimov D., Marinov I., Penev T., Miteva Ch. and Gergovska Zh. (2017): Influence of temperature-humidity index on comfort indices in dairy cows. *SYLWAN*.
59. Druet T., Fritz S., Sellem E., Basso B., Gérard O., Salas-Cortes L., Humblot P., Druart X. and Eggen A. (2009): Estimation of genetic parameters and genome scan for 15 semen characteristics traits of Holstein bulls. *J. Anim. Breed. Genet.* 126, 269–277.
60. Du Preez J. H., Giesecke W. H. and Hattingh P.J. (1990): Heat stress in dairy cattle and other livestock under Southern African conditions. I. Temperature- humidity index mean values during the four main seasons. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 57, 77-86.
61. Ducrocq V. and Humblot P. (1995): Genetic characteristics and evolution of semen production of young Normande bulls. *Livest. Prod. Sci.* 41:1–10.
62. Dunn R. J. H., Mead N. E., Willett K. M. and Parker D. E. (2014): Analysis of heat stress in UK dairy cattle and impact on milk yields. *Environmental Research Letters* 9, 064006.
63. Đedović R. (2015): Populaciona genetika i oplemenjivanje domaćih i gajenih životinja. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd. p. 139–232.
64. Ekine-Dzivenu C., Mrode R., Oyieng E., Komwihangilo D., Lyatuu E., Msuta G., Ojango J. M. K. and Okeyo A. M. (2020): Evaluating the impact of heat stress as measured by temperature-humidity index (THI) on test-day milk yield of small holder dairy cattle in a sub-Saharan African climate. *Livestock Science* 242:104314. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104314>.
65. Entwistle K., Rose M. and McKiernan B. (2000): Mortalities in Feedlot Cattle at Prime City Feedlot, Tabbita, NSW, Agriculture Sydney: Sydney, Australia.

66. Filipčič R., Rečková Z., Pešan V., Konoval O. and Kopec T. (2023): Evaluation of semen parameters from Fleckvieh–Simmental bulls and the influence of age and season of collection. <https://doi.org/10.5194/aab-66-113-2023>.
67. Gantner V., Bobić T., Gantner R., Gregić M., Kuterovac K., Novaković J. and Potočnik K. (2017): Differences in response to heat stress due to production level and breed of dairy cows. *International Journal of Biometeorology* 61, 9, 1675- 1685.
68. Gantner V., Mijić P., Kuterovac K., Solić D. and Gantner R. (2011): Temperature-humidity index values and their significance on the daily production of dairy cattle. *Mljekarstvo*, 61(1), 56- 63.
69. Garcia-Oliveros L. N., Paes de Arruda R., Batissaco L., Gonzaga V. G. G., Nogueira V. J. N., Florez-Rodriguez S. A., dos Santos Almeida F., Rodrigues Alves M. B., Costa Pinto S. C., Nichi M., de Agostini Losano J. D., Kawai G. K. V. and Celeghini E. C. C. (2022): Chronological characterization of sperm morpho-functional damage and recovery after testicular heat stress in Nellore bulls. *Journal of Thermal Biology* 106: 103237.
70. Gaughan J. B. (2002): *Respiration Rate and Rectal Temperature Responses of Feedlot Cattle in Dynamic, Thermally Challenging Environments*; The University of Queensland Gatton: Queensland, Australia.
71. Gebreyesus G., Lund M. S., Kupisiewicz K, and Guosheng S. (2021): Genetic parameters of semen quality traits and genetic correlations with service sire nonreturn rate in Nordic Holstein bulls. *Journal of Dairy Science*. doi: 10.3168/jds.2021-20403.
72. Gholami H., Chamani M., Towhidi A. and Fazeli M. H. (2011): Improvement of Semen Quality in Holstein Bulls during Heat Stress by Dietary Supplementation of Omega-3 Fatty Acids. *Int J Fertil Steril*. Jan-Mar; 4(4): 160–167, PMID: 24851176.
73. Gledić D. (2012): *Veterinarska histologija*, VK Srbije, Beograd, 1-348.
74. Godišnji bilten za Srbiju. (2023). Republički hidrometeorološki zavod Srbije, Kneza Višeslava 66, 11000 Beograd, Republika Srbija.
75. Gorobets G. G. (1987): Heritability and variability of reproductive ability of stud bulls. *Byull. Vses. Nauchno Issled. Inst. Razvedeniya Genet. Sel' skokhozyaistvennykh Zhivotnykh* 95: 12–13.
76. Gredler B., Fuerst C., Fuerst-Waltl B., Schwarzenbacher H. and Sölkner J. (2007): Short communication: genetic parameters for semen production traits in Austrian dual-purpose Simmental bulls. *Reprod. Dom. Anim* 42, 326–328.
77. Guo X., Huang J., Luo Y., Zhao Z. i Xu Y. (2017): Projection of heat waves over China for eight different global warming targets using 12 CMIP5 models. *Theoretical and applied climatology*, 128, 507-522.
78. Gwazdauskas F. C. (1985): Effects of climate on reproduction in cattle. *J Dairy Sci*. 1984;68(6):1568–1578.
79. Hafez E. S. E. (1974): *reproduction in Farm Animals*. 3rd ed., (Ed., Lea & Febiger), Philadelphia.
80. Hahn G. L. (1999): Dynamic Responses of Cattle to Thermal Heat Loads. *J. Anim. Sci.* 77 (Suppl. 2), 10–20.
81. Hansen P. J. (2013): Genetic control of heat stress in dairy cattle. In: *Proceedings 49th Florida Dairy Production Conference*, Gainesville.
82. Herbut P. and Angrecka S. (2012): Forming of temperature-humidity index (THI) and milk production of cows in the free-stall barn during the period of summer heat. *Animal Science Papers and Reports* 30 (4), 363-372.

83. Herbut P. and Angrecka S. (2018): Relationship between THI level and dairy cows' behaviour during summer period, *Italian Journal of Animal Science*, 17(1): 226-233.
84. Hill D. L. and Wall E. (2015): Dairy cattle in a temperate climate: the effects of weather on milk yield and composition depend on management. *Animal* 9(1):138-149.
85. Hofirek B., Dvorak R., Nemeček L., Doležel R. and Pospíšil Z. (2009): Cattle diseases in Czech: Nemoci skotu Brno, ČR: Česká buiatrická společnost.
86. Hoogenboezem J. and Swanepoel F. (2000): Zootechnological aspect of bull fertility. *Animal Genetic Resource Iowa*. State University Press.
87. Hossain S., Miraz M. F. H., Akter S., Ali M. Y. and Deb G. (2022): Comparative Study on Semen Quality and Fertility of Red Chittagong Cattle, BCB1 and Munshiganj Bulls of Bangladesh. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 13, 428-441. doi: 10.4236/abb.2022.139028.
88. Hu J. H., Li Q. W., Chen Y. L., Jiang Z. L., Jia Y. H., Wang L. Q. and Ou B.B. (2009): "effects of addition of vitamin b₁₂ to the extender on post-thaw motility, acrosome morphology, and plasma membrane integrity in bull semen," *turkish journal of veterinary & animal sciences*: vol. 33: no. 5, article 3. <https://doi.org/10.3906/vet-0712-19>.
89. Huhnke R. L., McCowan L. C., Meraz L. C., Harp S. L. and Payton M. E. (2001): Determining the frequency and duration of elevated temperature-humidity index. *ASAE Annu. Int. Mtg.*, Sacramento, CA. Am. Soc. Agric. Biol. Eng., St. Joseph, MI.
90. Jakovljević G. (2004): kvalitet sperme mladih bikova iz progenog testa u zavisnosti od korišćenja obroka različite structure. *Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine. Magistarska teza*.
91. Jakovljević G. (2004): Uticaj teških metala iz hrane i vode na kvalitet duboko zamrznutog semena bika. *Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine. Doktorska disertacija*.
92. Kadzere C. T., Murphy M. R., Silanikove N. and Maltz E. (2002): Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Production Science*, 77, 59-91.
93. Kaka A., Wahid H., Rosnina Y., Yimer N., Khumran A. M., Sarsaifi K., Nehan A. A., Kaka U and Ebrahimi M. (2015): α -Linolenic acid supplementation in BioXcell® extender can improve the quality of post-cooling and frozen-thawed bovine sperm. *Animal Reproduction Science*, Volume 153, 2015, Pages 1-7, ISSN 0378-4320, <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.12.001>.
94. Karoui S., Díaz C., Serrano M., Cueva R., Celorriob I. and Carabaño M. J. (2011): Time trends, environmental factors and genetic basis of semen traits collected in Holstein bulls under commercial conditions. *Anim. Reprod. Sci.* 124, 28-38.
95. Kastelic J. P., Cook R. B., Coulter G. H. and Saacke R. G. (1996): Insulating the scrotal neck affects semen quality and scrotal/testicular temperatures in the bull. *Theriogenology*, 45, 935-942.
96. Kastelic J. P., Wilde R. E., Bielli A., Genovese P., Rizzoto G. and Thundathil J. (2019): Hyperthermia is more important than hypoxia as a cause of disrupted spermatogenesis and abnormal sperm. *Theriogenology* 131: 177-181, <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.03.040>.
97. King G. J. (1993): *Reproduction in Domesticated Animals*. Elsevia Science Publisher B.V. London, New York.
98. Kučević D., Plavšić M., Trivunović S., Radinović M. and Bogdanović V. (2013): Influence of microclimatic conditions on the daily production of dairy cows. *Biotechnology in Animal Husbandry* 29 (1), p 45-51, UDC 636.083.312'62 DOI: 10.2298/BAH1301045K.

99. Kumar N., Verma R. P., Singh L. P., Varshney V. P. and Dass R. S. (2006): Effect of different levels and sources of zinc supplementation on quantitative and qualitative semen attributes and serum testosterone level in crossbred cattle (*Bos indicus* x *Bos taurus*) bulls. *Reprod Nutr Dev.* 2006 Nov-Dec;46(6):663-75. doi: 10.1051/rnd:2006041. Epub 2006 Dec 15. PMID: 17169313.
100. Lambertz C., Sanker C. and Gauly M. (2014): Climatic effects on milk production traits and somatic cell score in lactating Holstein-Friesian cows in different housing systems. *American Dairy Science Association. Journal of Dairy Science* 97 (1), 319-329.
101. Lang H., Preisinger R. and Kalm E. (1988): Analysis of data on semen quality in Angeln cattle obtained from a breeding program. *Zuchthygiene (Berlin)* 23:10–18.
102. Lees A. M., Sejian V., Wallage A. L., Steel C. C., Mader T. L., Lees J. C. and Gaughan J. B. (2019): The Impact of Heat Load on Cattle. *Animals : an open access journal from MDPI*, 9(6), 322. <https://doi.org/10.3390/ani9060322>.
103. Lubet G. and McGeehin M. (2008): Climate change and extreme heat events. *Am J Prev Med.* ;35:429–35.
104. Luceno N. L., Hostens M., Mullaart E., Broekhuijse M., Lonergan P. and Van Soom A. (2020): High temperature-humidity index compromises sperm quality and fertility of Holstein bulls in temperate climates. *J. Dairy Sci.* 103:9502–9514, <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18089>.
105. Luceno N. L., Angrimani D. R., Bicudo L. D. C., Szymanska K. J., Van Pouck M., Demeyere K., Meyer E., Peelman L., Mullaart E., Broekhuijs M. L. W. J. and Van Soom A. (2020): Exposing dairy bulls to high temperature-humidity index during spermatogenesis compromises subsequent embryo development in vitro. *Theriogenology* 141: 16-25.
106. Mader T. L. and Griffin D. (2015): Management of Cattle Exposed to Adverse Environmental Conditions. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract*, 31, 247–258.
107. Mader T. L., Davis M. S. and Brown-Brandl T. (2006): Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *J Dairy Sci* 84(3):712–719.
108. Mader T. L., Gaughan J. B., Johnson L. J. and Hahn G. L. (2010): Tympanic temperature in confined beef cattle exposed to excessive heat load. *Int. J. Biometeorol*, 54, 629–635.
109. Majić B., Balica S., Milinkovic T. M., Samardžijab S. and Vince S. (2012): Effect of age and environmental factors on semen quality, glutathione peroxidase activity and oxidative parameters in Simmental bulls. *Theriogenology* 78:423–431. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.02.022.
110. Majkić M., Cincović M. R., Belić B. i Plavša N. (2017): Indeks termalnog komfora (THI) krava u letnjim mesecima od 2005 od 2006 godine na teritoriji AP vojvodine. “XXII Savetovanje o biotehnologiji” Zbornik radova, Knjiga 2.
111. Marinković M., Perišić P., Andrić D., Mičić N., Stojiljković N., Niksic D. and Pantelić V. (2020): The effect of age on semen quality of Holstein- friesian bulls. 55th Croatian & 15th International Symposium on Agriculture | February 16-21, 2020, Vodice, Croatia.
112. Mathevon M., Bhyr R. M. and Dekkers J. C. (1998): Environmental, management, and genetic factors affecting semen production in Holstein bulls. *J. Dairy Sci.* 81:3321-3330.
113. Matović G., Gregoric E. and Glamoclija Đ. (2017): Chapter 12. Crop production and drought in Serbia in light of climate change. *Agriculture in Serbia and Portugal: Recent Developments and Economic Policy Implications.* 264-286.
114. McDowell R. E. (1972): Improvements of livestock production in warm climates. Cornell University. Wlt, Freeman and Company, NY.

115. Mijić P. (2013): Microclimate parameters on the cattle farms and some technological solutions for elimination of their harmful influence. 10th International Symposium Modern Trend sin Livestock Production. Beograd, Srbija. 37. – 47.
116. Milovanović A., Brana T., Jovićin M., Apić J., Lazić S., Stojanov I, Lazarević M. i Urošević M. (2015): Procedure, rezultati i efekti analize uzoraka uvoznog semena bikova pregledanih u “NIV-NS”. 6. Naučni simpozijum Reprodukcijska domaćih životinja i bolesti mlečne žlezde, 8-11 oktobar, Divčibare, Srbija, 169-85.
117. Miljković V. (1990): Reprodukcijska i veštačko osemenjavanje goveda. Beograd.
118. Morrell J. M. (2020): Heat stress and bull fertility. *Theriogenology* 153: 62-67, <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.05.014>.
119. Mrode R. A. and Thompson R. (2014): Linear models for the prediction of animal breeding values. ePDF:eISBN : 978-1-84593-102-5344 pages.
120. Muller W. A. and Hassel M. (2003): *Entwicklungsbiologie und Reproduktionsbiologie von Menschen und Tieren*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
121. Murphy E. M., Kelly A.K., O'Meara C., Eivers B., Lonergan P. and Fair S. (2018): Influence of bull age, ejaculate number, and season of collection on semen production and sperm motility parameters in Holstein Friesian bulls in a commercial artificial insemination centre. *J Anim Sci.* 2018 Jun 4;96(6):2408-2418. doi: 10.1093/jas/sky130. PMID: 29767722; PMCID: PMC6095274.
122. Nardone A., Ronchi B., Lacetera N., Ranieri M. S. and Bernabucci U. (2010): Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livest. Sci*, 130, 57–69.
123. Netherton J. K., Gunn A., Robinson B. R., Balbin Villaverde A. I. S., Colyvas K., Wise C., Russo T., Dowdell A., Ogle R. A. and Baker M. A. (2022): The seasonal effect of temperature on bull semen quality: The emergence of heat-sensitive and heat-tolerant bulls. Research Square, <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1157467/v1>.
124. Nichi M., Bols P. E., Zuge R. M., Barnabe V. H., Goovaerts I. G., Barnabe R. C. and Cortada C. N. (2006): Seasonal variation in semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* bulls raised under tropical conditions. *Theriogenology*, 66 (2006), pp. 822-828.
125. Olsen H. B., Heringstad B. and Klemetsdal G. (2020): Genetic analysis of semen characteristic traits in young Norwegian Red bulls. *J. Dairy Sci.* 103:545–555. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17291>.
126. Ominski K. H., Kennedy A. D., Wittenberg K. M. and Moshtaghi Nia S. A. (2002): Physiological and production responses to feeding schedule in lactating dairy cows exposed to short-term, moderate heat stress. *J Dairy Sci.* 2002;85:730–7.
127. Paldusova M., Kopec T., Chladek G., Hosek M., Machal L. and Falta D. (2014): The effect of the stable environment and age on the semen production in the Czech Fleckvieh bulls. *MendelNet* 2014: 178-182.
128. Prastowo S., Widyas N., Ratriyanto A., Kusuma M. S. T., Dharmawan P., Setiawan I. A. and Bachtiar A. (2019): Individual Variance Component of Fresh Semen Quality in Bali Cattle (*Bos javanicus*) Bull. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Volume 372, The 1st Animal Science and Food Technology Conference (AnSTC) 2019 6–8 August 2019, Purwokerto, Indonesia. DOI 10.1088/1755-1315/372/1/012025.
129. Prathap P., Sejian V., Madijagan B., Krishnan G., Archana P. R., Jou A. and Bhatta R. (2017): Heat stress impact on semen production in bulls. Conference: National Conference on Adaptation Interventions for Climate Resilient Agriculture in Coastal Agro-ecosystems At: Acharya N. G. Ranga Agricultural University, Guntur, Andhra Pradesh, India.

130. Rahman M .B., Kamal M. M., Rijsselaere T., Vandaele L., Shamsuddin M. and Van Soom A. (2013): Altered chromatin condensation of heat-stressed spermatozoa per- turbs the dynamics of DNA methylation reprogramming in the paternal genome after in vitro fertilisation in cattle. *Reprod Fertil Dev*;26:1107e16. <https://doi.org/10.1071/RD13218>.
131. Ravagnolo O. and Misztal I. (2000): Genetic component of heat stress in dairy cattle, parameter estimation. *J Dairy Sci* 83:2126–2130.
132. Reiczigel J., Solymosi N., Konyves L., Maróti - Agots A., Kern A. and Bartyik J. (2009): Examination of heat stress caused milk production loss by the use of temperature-humidity indices. *Magy Allatorv*, 131: 137-144.
133. Rhoads M. L., Rhoads R. P., VanBaale M. J., Collier R. J., Sanders S. R., Weber W. J., Crooker B. A. and Baumgard L. H. (2009): Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *American Dairy Science Association*, 10.3168/jds.2008-1641.
134. Rhoads R. P., Baumgard L. H., Suagee J. K. and Sanders S. R. (2013): Nutritional interventions to alleviate the negative consequences of heat stress. *Adv. Nutr.* 4(3): 267–276.
135. Roth Z. (2017): Effect of heat stress on reproduction in dairy cows: insights into the cellular and molecular responses of the oocyte. *Annu Rev Anim Biosci* 5:151–170.
136. Roth Z., Median R., Braw-Tal R. and Wolfenson D. (2000): Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows *J. Reprod. Fertil.*, 120, pp. 83-90.
137. Roth Z., Meidan R., Shaham-Albalancy A., Braw-Tal R. and Wolfenson D. (2001): Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-sized and preovulatory bovine follicles *Reproduction*, 121 (2001), pp. 745-751.
138. Ruml M., Gregorić E., Vujadinović M., Radovanović S., Matović G., Vuković A., Počuča V. and Stojičić D. (2017): Observed Changes of Temperature Extremes in Serbia over the Period 1961–2010, *Atmospheric Research*, 183, Jan., pp. 26-41. ISSN 0169-8095, <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2016.08.013>.
139. Sabés-Alsina M., Lundeheim N., Johannisson A., López-Béjar M. and Morrell M. J. (2019): Relationships between climate and sperm quality in dairy bull semen: A retrospective analysis. *Journal of Dairy Science*, Volume 102, Issue 6, 5623 – 5633.
140. Salah M. S. and Mogawer H. H. (1990): Reproductive performance of Friesian cows in Saudi Arabia. II Resting and service interval, conception rate, and number of services per conception, 28, *Landwirtsch Veterinarmed, Beitr. Trop* (1990) 85–91.
141. Salisbury G. W., Van Denmark N. L. and Lodge J. R. (1978): *Physiology of reproduction and AI of cattle*. W. N. Freeman and Co. San Fransisco.
142. Santos D., Fischer V., Munchen E. P., Calderaro D. V., Tempel S. M., Kolling G. J., Marcos V. G. and Mcmanus C. (2017): Infrared thermography as a method for evaluating the heat tolerance in dairy cows. *Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science*, 46(5), 374-383.
143. Sariozkan S., Tuncer P. B., Bucak M. N., Buyukleblebici S., Kinet H. and Bilgen A.(2010): The effects of different egg yolk concentrations used with soy bean lecithin-based extender on semen quality to freeze bull semen. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 26(1), 45-49.
144. Saunders P. T. (2003): Germ cell-somatic cell interactions during spermatogenesis. *Reprod Suppl.* 61:91–101.

145. Schuller L. K., Burfeind O. and Heuwieser W. (2014): Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature–humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. *Theriogenology*, 81: 1050-1057.
146. Segnalini M., Bernabucci U., Vitali A., Nardone A. and Lacetera N. (2013): Temperature humidity index scenarios in the Mediterranean basin. *Int J Biometeorol.* 57:451–458.
147. Segnalini M., Nardone A., Bernabucci U., Vitali A., Ronchi B. and Lacetera N. (2011): Dynamics of the temperature-humidity index in the Mediterranean basin. *International Journal of Biometeorology* 55:253–263. DOI: 10.1007/s00484-010-0331-3.
148. Seifi-Jamadi A., Kohram H., Zhandi M., Llamas N., Leemans B, Henrotte E., Latour C., Demeyere K., Meyer E. and Van Soom A. (2020). 139 Heat stress has a deleterious effect on bull semen quality and subsequent embryo development. *Reproduction, Fertility and Development.* 32. 196. 10.1071/RDv32n2Ab139.
149. Sejian V., Bhatta R., Soren N. M., Malik P. K., Ravindra J. P., Prasad C. and Lal R. (2015): Introduction to Concepts of Climate Change Impact on Livestock and Its Adaptation and Mitigation. In *Climate Change Impact on Livestock: Adaptation and Mitigation*; New Delhi, India, pp. 1–23.
150. Setchell B. P. (1998): Heat and the testis. *J. Report. Fertil.* 114, 179-194.
151. Shojaei H., Kroetsch T., Wilde R., Blondin P., Kastelic J. P. and Thundathil J. C. (2012): Moribund sperm in frozen-thawed semen, and sperm motion end points post-thaw and post-swim-up, are related to fertility in Holstein AI bulls. *Theriogenology.* 2012 Mar 15;77(5):940-51. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.09.026. Epub 2011 Dec 3. PMID: 22137769.
152. Silva P. F. N., Gadella B. M., Colenbrander B. and Roelen B. A. J. (2007): Exposure of bovine sperm to pro-oxidants impairs the developmental competence of the embryo after the first cleavage. *Theriogenology*; 67:609e19. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.09.032>.
153. Službeni glasnik Republike Srbije br. 38/2014. O načinu obeležavanja sperme, načinu vođenja evidencije o proizvodnji sperme, kao i o uslovima koje mora da ispunjava sperma u pogledu kvaliteta.
154. Smiljaković T., Petrović M. M., Poleksić V., Alm H., Milan P. P., Radović Č. i Pejčić S. (2007): Anatomsko-Fiziološke Osnove reprodukcije Domaćih Životinja. *Biotechnology in Animal Husbandry* 23 (1-2), p , ISSN 1450-9156 Publisher: Institute for Animal Husbandry, Belgrade-Zemun UDC 636. 082.
155. Smith D. L., Smith T., Rude B.J. and Ward S. H. (2013): Short communication: comparison of the effects of heat stress on milk and component yields and somatic cell score in Holstein and Jersey cows. *J Dairy Sci* 96:3028–3033.
156. Snoja T., Kobala S. and Majdicbc G. (2013): Effects of season, age, and breed on semen characteristics in different *Bos taurus* breeds in a 31-year retrospective study. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology>.
157. Spasojević J., Majkić M., Cincović M., Stanojević J., Blond B., Kovačević D. i Radinović M. (2023): Povezanost temperature površine tela izmerene infracrvenom termografijom i indeksa temperature i vlažnosti vazduha u proceni toplotnog stresa krava. *Poljoprivredni fakultet Univerzitet u Novom Sadu. Letopis naučnih radova Vol. 47, No 1, 58-66 UDK: 637.1:621.3.017.*

158. Spiers D. E., Spain J. N., Sampson J. D. and Rhoads R. P. (2004): Use of physiological parameters to predict milk yield and feed intake in heat-stressed dairy cows. *Journal of Thermal Biology*, 29(7-8): 759-764.
159. St - Pierre N. R., Cobanov B. and Schnitkey G. (2003): Economic losses from heat stress by US livestock industries. *J. Dairy Sci.* 86(E. Suppl.):E52–E77. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(03\)74040-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(03)74040-5).
160. Stadnik L., Beran J., Doležalova M., Ducháček J. and Toušova R. (2014): Selected factors affecting quantitative and qualitative indicators of bulls sperm. *Applied certified methodology*. Praha, ČR: Česká zemědělská univerzita v Praze.
161. Stadnik L., Rajmon R., Beran J., Šimonik O., Doležalova M., Šichtar J., Stupka R. and Folkova P. (2015): Influence of selected factors on bovine spermatozoa cold shock resistance. *Acta Vet. Brno*, 84: 125–131.
162. Stalhammar E., Janson L. and Philipsson J. (1989): Genetic studies on fertility in A.I. bulls. I. Age, season and genetic effects on semen characteristics in young bulls. *Anim. Reprod. Sci.* 19, 1–17.
163. Stančić I. (2014): Reprodukcijska domaćih životinja. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6395885>.
164. Stanišić B. (1994): Reprodukcijska domaćih životinja. Univerzitet u Novom Sadu.
165. Stanojević D., Đedović R., Bogdanović V., Raguž N., Kučević D., Popovac M., Stojić P. and Samolovac Lj. (2018): Genetic trend of functional productive life in the population of black and white cattle in Serbia. *Genetika*, 50, 863-883.
166. Steadman R. G. (1979): The assessment of sultriness. Part I: a temperature- humidity index based on human physiology and clothing science. *J Appl Meteorol* 18:861–873.
167. Stričević R., Prodanović S., Đurović N., Petrović O. and Đurović D. (2018): Climate change impacts on Serbian agriculture. Report on observed climate change impacts on agriculture in Serbia and future projections of climate impacts based on different scenarios regarding future emissions. Belgrade, June 2019. ISBN: 978-86-7728-263-9.
168. Suchocki T. and Szyda J. (2015): Genome-wide association study for semen production traits in Holstein-Friesian bulls, *J. Dairy Sci.*, 98, 5774–5780, <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8951>, 2015.
169. Taylor J. F., Bean B., Marshall C. E. and Sullivan J. J. (1985): Genetic and environmental components of semen production traits of artificial insemination Holstein bulls. *J. Dairy Sci.* 68: 2703–2722.
170. Teixeira H. C. A., Nascimento N. V., McManus C., Egito A. A., Mariante A. S. and Ramos A. F. (2011): Seasonal influence on semen traits and freezability from locally adapted Curraleiro bulls. *Animal Reproduction Science*. Volume 125, Issues 1–4, Pages 56-61.
171. Tharinda D., Subhani A., Mailvaganam P. and Wimal P. (2023): Effect of Heat Stress on Cattle: A Review. *Advances in Technology*. 3. 135-151. 10.31357/ait.v3i2.7339.
172. Thatcher W. W., Flamenbaum I., Block J. and Bilby T. R. (2010): Interrelationships of heat stress and reproduction in lactating dairy cows. The High Plains Dairy Conference, Amarillo <https://pdfs.semanticscholar.org>.
173. Thundathil J. C., Rajamanickam G. D., Kastelic J. P. and Newton L. D. (2012): The effects of increased testicular temperature on testis-specific isoform of Na⁺/K⁺-ATPase in sperm and its role in spermatogenesis and sperm function. *Reprod.Dom.Anim* 47 (4): 170-177. doi:10.1111/j.1439-0531.2012.02072.x.

174. Udala J. and B. Lasota. (1988): Genetic effects on semen quality in bulls from different sire groups. *Tierzuchtung* 42:234–235.
175. Unkasevic M. and Tosic I. (2013): Trends in Temperature Indices over Serbia: Relationship to Large Scale Circulation Patterns, *International Journal of Climatology*, 33, 15, pp. 3152-3161.
176. Unkašević M. and Tošić I. (2015): Seasonal Analysis of Cold and Heat Waves in Serbia during the Period 1949 - 2012, *Theoretical and Applied Climatology*, 120, 1-2, pp. 29-40.
177. Vakanjac S., Pavlović V., Pavlivić M. i Nedić S. (2013): Procena citološkog i mikrobiloškog kvaliteta duboko zamrznutog semena bika. 4 Naučni simpozijum Reprodukcijska domaćih životinja, 10-13. Oktobar, Divčibare, Srbija, 91-9.
178. Valeanu A., Johannisson A., Lundeheim N. and Morrell J. M. (2015): Seasonal variation in sperm quality parameters in Swedish red dairy bulls used for artificial insemination. *Livest. Sci.*, 173: 111–118.
179. Vasseur E., Rushen J., Haley D. B. and de Passille A. M. (2012): Sampling cows to assess lying time for on-farm animal welfare assessment. *J Dairy Sci.* 95:4968–4977.
180. Vleck L. D. (1993): Selection Index and Introduction to Mixed Model Methods. CRC-Press, 1993, ISBN 0849387620, 9780849387623.
181. Vučemilo M. i Tofant A. (2009): Praktikum – Okoliš i higijena držanja životinja. Jastrebarsko: Naklada Slap.
182. Vukovic A., Vujadinovic M., Rendulic S., Đurđević V., Ruml M., Babic V. and Popović D. (2018): Global warming impact on climate change in Serbia for the period 1961-2100. *Thermal Science* 2018(00): 160-168.
183. Wang X., Yang J., Xue J., Zhang M., Zhang F., Wang K., Li Y., Zhang Y., Wu X., Wang F., Zhao X., Ni J., Ma Y., Li R., Wang L., Su G., Gao Y. and Li J. (2024): Genetic Parameters of Semen Traits and Their Correlations with Conformation Traits in Chinese Holstein Bulls. *Vet Med Int.* 2024 Jan 29;2024:5593703. doi: 10.1155/2024/5593703. PMID: 38318262; PMCID: PMC10843862.
184. Westcott N. E. (2011): The Prolonged 1954 Midwestern, U.S. Heat Wave: Impacts and Responses. *Weather. Clim. Soc.* 3, 165–176.
185. Wettemann R. P. and Boehmer B. H. (2014): Influence of heat stress on male fertility. *Proceedings of Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle. K-State Research and Extension, Stillwater, OK* (2014): 257-263.
186. Yin H. L., Fang C. Q. and Zhang S. (2019): Estimation of the genetic parameters for semen traits in Chinese Holstein bulls. *BMC Genet.* 20. <https://doi.org/10.1186/s12863-019-0752x>.
187. Yousef M. K. (1985): In: Basic Principles. *Stress Physiology in Livestock*, Vol. 1. CRC Press,. pp 217-1985.
188. Zuzana B., Jaromír D., Luděk S., Martina D. and Radim, H. (2017): Effects of climatic conditions on bovine semen characteristics. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae mendelianae brunensis* 65:17-23. DOI: 10.11118/actaun201765010017.
189. Žikić D., Ušćebrka G. i Stojanović S. (2016): MORFOLOGIJA ŽIVOTINJA. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.

7. PRILOZI

PRILOG 1. Broj skokova po biku po godinama i sezonama

Godina/sezona	N
2017	446
jesen	369
leto	24
zima	53
2018	430
jesen	17
leto	14
proleće	158
zima	241
2019	141
leto	22
proleće	98
zima	21
Ukupno	1017

N-ukupan broj podataka u obradi

PRILOG 2. Broj uzoraka po biku po pokazateljima količine i kvaliteta semena pre zamrzavanja

Bik	KE	GE	PSNS	RS
1	77	75	73	61
2	32	30	30	19
3	28	23	22	16
4	27	26	26	
5	31	29	29	17
6	24	24	24	9
7	34	32	32	21
8	43	42	42	13
10	9	7	7	
11	8	7	7	
13	72	66	66	50
15	65	60	60	25
17	34	29	28	6
18	21	18	18	10
19	5	5	5	
20	19	18	16	3
21	33	31	31	26
22	12	10	10	
23	73	71	70	49
24	20	20	20	7
25	29	27	25	5
26	27	24	23	4
27	18	14	14	4
28	15	13	13	
30	38	36	35	10
31	9	6	6	
32	66	62	59	45
33	16	16	16	4
34	16	14	14	
35	71	70	68	62
37	22	15	15	
38	23	21	20	
Ukupno	1017	941	924	466

PRILOG 3. Broj uzoraka po biku po pokazateljima količine i kvaliteta semena posle zamrzavanja

Bik	BZD	PSNZ	OSNZ
1	57	45	44
2	17	11	11
3	17	16	16
5	17	15	15
6	8	7	7
7	21	16	16
8	13	11	11
13	47	39	39
15	24	19	18
17	6	6	6
18	10	9	9
20	3	3	3
21	25	16	16
23	48	39	40
24	7	7	7
25	5	4	3
26	4	3	3
27	4	4	4
30	10	7	7
32	39	35	34
33	4	3	3
35	62	52	52
Ukupno	448	367	364

PRILOG 4. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za KE kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	268.183 ^a	11	24,380	5,459	0,000
Presek	8534,098	1	8534,098	1910,754	0,000
Kategorija starosti	138,099	2	69,050	15,460	0,000
Godina	56,340	2	28,170	6,307	0,002
Sezona	38,007	3	12,669	2,837	0,037
THIminus60_kategorija	20,055	4	5,014	1,123	0,345
Greška	3291,701	737	4,466		
Ukupno	24816,090	749			
Korigovano ukupno	3559,884	748			

PRILOG 5. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za GE kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	14081083.180 ^a	11	1280098,471	2,943	0,001
Presek	543059403,965	1	543059403,965	1248,497	0,000
Kategorija starosti	1670217,237	2	835108,619	1,920	0,147
Godina	9864,124	2	4932,062	0,011	0,989
Sezona	1603961,900	3	534653,967	1,229	0,298
THIminus60_kategorija	5098325,445	4	1274581,361	2,930	0,020
Greška	296649967,540	682	434970,627		
Ukupno	1843504400,000	694			
Korigovano ukupno	310731050,720	693			

PRILOG 6. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za PSNS kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	38.098 ^a	11	3,463	5,380	0,000
Presek	2981,054	1	2981,054	4630,533	0,000
Kategorija starosti	9,061	2	4,531	7,037	0,001
Godina	3,142	2	1,571	2,440	0,088
Sezona	0,620	3	0,207	0,321	0,810
THIminus60_kategorija	8,198	4	2,050	3,184	0,013
Greška	431,978	671	0,644		
Ukupno	8446,000	683			
Korigovano ukupno	470,076	682			

PRILOG 7. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za RS kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	404.894 ^a	11	36,809	3,214	0,000
Presek	53214,864	1	53214,864	4646,337	0,000
Kategorija starosti	43,525	2	21,762	1,900	0,151
Godina	233,797	2	116,899	10,207	0,000
Sezona	119,584	3	39,861	3,480	0,016
THIminus60_kategorija	119,046	4	29,761	2,599	0,036
Greška	4466,701	390	11,453		
Ukupno	161815,000	402			
Korigovano ukupno	4871,595	401			

PRILOG 8. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za OSNZ kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	35.502 ^a	11	3,227	2,751	0,002
Presek	552,543	1	552,543	470,884	0,000
Kategorija starosti	9,087	2	4,543	3,872	0,022
Godina	12,425	2	6,213	5,294	0,006
Sezona	1,856	3	0,619	0,527	0,664
THIminus60_kategorija	6,144	4	1,536	1,309	0,267
Greška	344,985	294	1,173		
Ukupno	4115,000	306			
Korigovano ukupno	380,487	305			

PRILOG 9. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za PSNZ kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	.179 ^a	11	0,016	2,674	0,003
Presek	13,724	1	13,724	2256,339	0,000
Kategorija starosti	0,027	2	0,013	2,210	0,111
Godina	0,021	2	0,011	1,761	0,174
Sezona	0,019	3	0,006	1,054	0,369
THIminus60_kategorija	0,013	4	0,003	0,522	0,720
Greška	1,806	297	0,006		
Ukupno	88,127	309			
Korigovano ukupno	1,985	308			

PRILOG 10. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za BZD kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	2245357.958 ^a	11	204123,451	7,625	0,000
Presek	26679881,165	1	26679881,165	996,686	0,000
Kategorija starosti	732193,974	2	366096,987	13,676	0,000
Godina	286633,759	2	143316,880	5,354	0,005
Sezona	441467,134	3	147155,711	5,497	0,001
THIminus60_kategorija	417073,736	4	104268,434	3,895	0,004
Greška	9957912,290	372	26768,581		
Ukupno	101769825,000	384			
Korigovano ukupno	12203270,247	383			

PRILOG 11. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za KE kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	408.684 ^a	11	37,153	8,642	0,000
Presek	13035,493	1	13035,493	3032,130	0,000
Kategorija starosti	146,078	2	73,039	16,989	0,000
Godina	41,955	2	20,977	4,879	0,008
Sezona	14,919	3	4,973	1,157	0,325
THI_kategorija	96,355	4	24,089	5,603	0,000
Greška	4320,617	1005	4,299		
Ukupno	31340,830	1017			
Korigovano ukupno	4729,301	1016			

PRILOG 12. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za GE kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	45171913.160 ^a	11	4106537,560	9,542	0,000
Presek	786809828,491	1	786809828,491	1828,209	0,000
Kategorija starosti	3565519,566	2	1782759,783	4,142	0,016
Godina	2638717,577	2	1319358,789	3,066	0,047
Sezona	3376836,797	3	1125612,266	2,615	0,050
THI_kategorija	6369082,391	4	1592270,598	3,700	0,005
Greška	399815545,076	929	430371,954		
Ukupno	2213589800,000	941			
Korigovano ukupno	444987458,236	940			

PRILOG 13. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za PSNS kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	102.995 ^a	11	9,363	12,944	0,000
Presek	4303,241	1	4303,241	5948,747	0,000
Kategorija starosti	13,491	2	6,746	9,325	0,000
Godina	7,487	2	3,744	5,175	0,006
Sezona	3,647	3	1,216	1,681	0,170
THI_kategorija	4,869	4	1,217	1,683	0,152
Greška	659,728	912	0,723		
Ukupno	10490,000	924			
Korigovano ukupno	762,723	923			

PRILOG 14. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za RS kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	361.976 ^a	11	32,907	2,609	0,003
Presek	75828,003	1	75828,003	6011,905	0,000
Kategorija starosti	62,153	2	31,077	2,464	0,086
Godina	147,233	2	73,616	5,837	0,003
Sezona	75,983	3	25,328	2,008	0,112
THI_kategorija	28,435	4	7,109	0,564	0,689
Greška	5726,290	454	12,613		
Ukupno	189302,000	466			
Korigovano ukupno	6088,266	465			

PRILOG 15. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za OSNZ kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	41.134 ^a	11	3,739	3,011	0,001
Presek	725,939	1	725,939	584,520	0,000
Kategorija starosti	10,939	2	5,470	4,404	0,013
Godina	20,122	2	10,061	8,101	0,000
Sezona	1,967	3	0,656	0,528	0,663
THI_kategorija	6,163	4	1,541	1,241	0,293
Greška	437,163	352	1,242		
Ukupno	4826,000	364			
Korigovano ukupno	478,297	363			

PRILOG 16. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za PSNZ kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	.181 ^a	11	0,016	2,413	0,007
Presek	18,967	1	18,967	2779,068	0,000
Kategorija starosti	0,044	2	0,022	3,257	0,040
Godina	0,040	2	0,020	2,959	0,053
Sezona	0,006	3	0,002	0,312	0,817
THI_kategorija	0,017	4	0,004	0,618	0,650
Greška	2,423	355	0,007		
Ukupno	104,153	367			
Korigovano ukupno	2,604	366			

PRILOG 17. Analiza varijanse (fiksni model) ispitivanih uticaja za BZD kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	2265483.150 ^a	11	205953,014	7,596	0,000
Presek	38787744,381	1	38787744,381	1430,504	0,000
Kategorija starosti	891190,069	2	445595,035	16,434	0,000
Godina	340857,308	2	170428,654	6,285	0,002
Sezona	166297,046	3	55432,349	2,044	0,107
THI_kategorija	175256,484	4	43814,121	1,616	0,169
Greška	11822022,848	436	27114,731		
Ukupno	115805961,000	448			
Korigovano ukupno	14087505,998	447			

PRILOG 18. Distribucija bikova po biku ocu za utvrđivanje repitabiliteta i broj ponavljanja po ispitivanim pokazateljima

Grupa pa očevima	N
A	86
B	124
C	201
D	210
E	169
F	227
Ukupno	1017

N-ukupan broj podataka u obradi

PRILOG 19. Analiza varijanse (mešoviti model) ispitivanih uticaja za KE kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	7573,270	1	7573,270	250,242	0,000
	Greška	179,904	5,945	30.264 ^a		
Godina	Hipoteza	48,749	2	24,374	5,748	0,003
	Greška	3129,439	738	4.240 ^b		
Sezona	Hipoteza	34,866	3	11,622	2,741	0,042
	Greška	3129,439	738	4.240 ^b		
THIminus60_kategorija	Hipoteza	15,633	4	3,908	0,922	0,451
	Greška	3129,439	738	4.240 ^b		
Grupa po očevima	Hipoteza	339,883	5	67,977	16,031	0,000
	Greška	3129,439	738	4.240 ^b		

PRILOG 20. Analiza varijanse (mešoviti model) ispitivanih uticaja za GE kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	502997346,251	1	502997346,251	1134,828	0,000
	Greška	15156051,618	34,194	443236.613 ^a		
Godina	Hipoteza	5599,021	2	2799,511	0,006	0,994
	Greška	297504332,312	682	436223.361 ^b		
Sezona	Hipoteza	1537307,172	3	512435,724	1,175	0,318
	Greška	297504332,312	682	436223.361 ^b		
THIminus60_kategorija	Hipoteza	4853932,720	4	1213483,180	2,782	0,026
	Greška	297504332,312	682	436223.361 ^b		
Grupa po očevima	Hipoteza	2276228,544	5	455245,709	1,044	0,391
	Greška	297504332,312	682	436223.361 ^b		

PRILOG 21. Analiza varijanse (mešoviti model) ispitivanih uticaja za PSNS kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	2757,030	1	2757,030	1915,032	0,000
	Greška	13,912	9,663	1,440 ^a		
Godina	Hipoteza	2,372	2	1,186	1,846	0,159
	Greška	431,169	671	0,643 ^b		
Sezona	Hipoteza	0,777	3	0,259	0,403	0,751
	Greška	431,169	671	0,643 ^b		
	Hipoteza	7,668	4	1,917	2,983	0,019

THIminus60_kategorija	Greška	431,169	671	.643 ^b		
Grupa po očevima	Hipoteza	13,977	5	2,795	4,350	0,001
	Greška	431,169	671	.643 ^b		

PRILOG 22. Analiza varijanse (mešoviti model) ispitivanih uticaja za RS kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	49858,790	1	49858,790	3523,957	0,000
	Greška	331,328	23,418	14.149 ^a		
Godina	Hipoteza	234,099	2	117,049	10,269	0,000
	Greška	4411,205	387	11.398 ^b		
Sezona	Hipoteza	126,572	3	42,191	3,701	0,012
	Greška	4411,205	387	11.398 ^b		
THIminus60_kategorija	Hipoteza	123,695	4	30,924	2,713	0,030
	Greška	4411,205	387	11.398 ^b		
Grupa po ocevima	Hipoteza	99,020	5	19,804	1,737	0,125
	Greška	4411,205	387	11.398 ^b		

PRILOG 23. Analiza varijanse (mešoviti model) ispitivanih uticaja za OSNZ kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	530,787	1	530,787	302,751	0,000
	Greška	39,375	22,459	1.753 ^a		
Godina	Hipoteza	13,683	2	6,842	6,013	0,003
	Greška	331,113	291	1.138 ^b		
Sezona	Hipoteza	1,713	3	0,571	0,502	0,681
	Greška	331,113	291	1.138 ^b		

THIminus60_kategorija	Hipoteza	6,665	4	1,666	1,464	0,213
	Greška	331,113	291	1.138 ^b		
Grupa po ocevima	Hipoteza	22,958	5	4,592	4,035	0,001
	Greška	331,113	291	1.138 ^b		

PRILOG 24. Analiza varijanse (mešoviti model) ispitivanih uticaja za PSNZ kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	13,179	1	13,179	1590,287	0,000
	Greška	0,233	28,164	.008 ^a		
Godina	Hipoteza	0,026	2	0,013	2,161	0,117
	Greška	1,737	294	.006 ^b		
Sezona	Hipoteza	0,015	3	0,005	0,839	0,473
	Greška	1,737	294	.006 ^b		
THIminus60_kategorija	Hipoteza	0,013	4	0,003	0,561	0,691
	Greška	1,737	294	.006 ^b		
Grupa po ocevima	Hipoteza	0,096	5	0,019	3,252	0,007
	Greška	1,737	294	.006 ^b		

PRILOG 25. Analiza varijanse(mešoviti model) ispitivanih uticaja za broj zamrznutih doza kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	23901384,858	1	23901384,858	321,262	0,000
	Greška	648880,611	8,722	74398.352 ^a		
Godina	Hipoteza	242153,231	2	121076,615	4,556	0,011
	Greška	9806991,021	369	26577.211 ^b		
Sezona	Hipoteza	437508,773	3	145836,258	5,487	0,001
	Greška	9806991,021	369	26577.211 ^b		
THIminus60_kategorija	Hipoteza	406202,323	4	101550,581	3,821	0,005
	Greška	9806991,021	369	26577.211 ^b		

Grupa po ocevima	Hipoteza	883115,242	5	176623,048	6,646	0,000
	Greška	9806991,021	369	26577.211 ^b		

PRILOG 26. Analiza varijanse (mešoviti model) ispitivanih uticaja za KE kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	11544,755	1	11544,755	279,009	0,000
	Greška	230,530	5,571	41.378 ^a		
Godina	Hipoteza	32,729	2	16,365	4,059	0,018
	Greška	4040,158	1002	4.032 ^b		
Sezona	Hipoteza	11,218	3	3,739	0,927	0,427
	Greška	4040,158	1002	4.032 ^b		
THI_kategorija	Hipoteza	81,757	4	20,439	5,069	0,000
	Greška	4040,158	1002	4.032 ^b		
Grupa po ocevima	Hipoteza	426,538	5	85,308	21,157	0,000
	Greška	4040,158	1002	4.032 ^b		

PRILOG 27. Analiza varijanse (mešoviti model) ispitivanih uticaja za GE kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	711918346,179	1	711918346,179	1034,078	0,000
	Greška	8652539,901	12,568	688456.819 ^a		
Godina	Hipoteza	2420446,475	2	1210223,238	2,815	0,060
	Greška	398060264,481	926	429870.696 ^b		
Sezona	Hipoteza	3115307,764	3	1038435,921	2,416	0,065
	Greška	398060264,481	926	429870.696 ^b		
THI_kategorija	Hipoteza	6391702,594	4	1597925,649	3,717	0,005
	Greška	398060264,481	926	429870.696 ^b		

Grupa po ocevima	Hipoteza	5320800,161	5	1064160,032	2,476	0,031
	Greška	398060264,481	926	429870.696 ^b		

PRILOG 28. Analiza varijanse (mešoviti model) ispitivanih uticaja za PSNS kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	3901,362	1	3901,362	1546,333	0,000
	Greška	18,148	7,193	2.523 ^a		
Godina	Hipoteza	6,539	2	3,270	4,589	0,010
	Greška	647,628	909	.712 ^b		
Sezona	Hipoteza	2,996	3	0,999	1,402	0,241
	Greška	647,628	909	.712 ^b		
THI_kategorija	Hipoteza	4,869	4	1,217	1,708	0,146
	Greška	647,628	909	.712 ^b		
Grupa po ocevima	Hipoteza	25,592	5	5,118	7,184	0,000
	Greška	647,628	909	.712 ^b		

PRILOG 29. Analiza varijanse (mešoviti model) ispitivanih uticaja za RS kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	68598,242	1	68598,242	4247,629	0,000
	Greška	286,411	17,735	16.150 ^a		
Godina	Hipoteza	146,901	2	73,451	5,832	0,003
	Greška	5680,548	451	12.595 ^b		
Sezona	Hipoteza	78,586	3	26,195	2,080	0,102
	Greška	5680,548	451	12.595 ^b		
THI_kategorija	Hipoteza	32,989	4	8,247	0,655	0,624
	Greška	5680,548	451	12.595 ^b		

Grupa po ocevima	Hipoteza	107,896	5	21,579	1,713	0,130
	Greška	5680,548	451	12.595 ^b		

PRILOG 30. Analiza varijanse (mešoviti model) ispitivanih uticaja za OSNZ kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	678,039	1	678,039	330,994	0,000
	Greška	36,233	17,688	2.048 ^a		
Godina	Hipoteza	21,152	2	10,576	8,768	0,000
	Greška	420,968	349	1.206 ^b		
Sezona	Hipoteza	2,000	3	0,667	0,553	0,647
	Greška	420,968	349	1.206 ^b		
THI_kategorija	Hipoteza	5,730	4	1,432	1,188	0,316
	Greška	420,968	349	1.206 ^b		
Grupa po ocevima	Hipoteza	27,135	5	5,427	4,499	0,001
	Greška	420,968	349	1.206 ^b		

PRILOG 31. Analiza varijanse ispitivanih uticaja za PSNZ kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	17,798	1	17,798	1737,717	0,000
	Greška	0,220	21,473	.010 ^a		
Godina	Hipoteza	0,046	2	0,023	3,453	0,033
	Greška	2,343	352	.007 ^b		
Sezona	Hipoteza	0,007	3	0,002	0,353	0,787
	Greška	2,343	352	.007 ^b		
THI_kategorija	Hipoteza	0,016	4	0,004	0,583	0,675
	Greška	2,343	352	.007 ^b		

Grupa po oocivima	Hipoteza	0,124	5	0,025	3,724	0,003
	Greška	2,343	352	.007 ^b		

PRILOG 32. Analiza varijanse (mešoviti model) ispitivanih uticaja za BZD kada je THI meren na dan uzimanja semena

Izvor		Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Presek	Hipoteza	33134593,855	1	33134593,855	320,503	0,000
	Greška	727702,313	7,039	103383.042 ^a		
Godina	Hipoteza	315679,120	2	157839,560	5,889	0,003
	Greška	11604945,518	433	26801.260 ^b		
Sezona	Hipoteza	162241,729	3	54080,576	2,018	0,111
	Greška	11604945,518	433	26801.260 ^b		
THI_kategorija	Hipoteza	173998,394	4	43499,598	1,623	0,167
	Greška	11604945,518	433	26801.260 ^b		
Grupa po oocivima	Hipoteza	1108267,399	5	221653,480	8,270	0,000
	Greška	11604945,518	433	26801.260 ^b		

PRILOG 33. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za KE kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	1073.708 ^a	38	28,255	7,967	0,000
Presek	4375,906	1	4375,906	1233,855	0,000
Bik	937,100	29	32,314	9,111	0,000
Godina	45,638	2	22,819	6,434	0,002
Sezona	29,748	3	9,916	2,796	0,039
THIminus60_kategorija	20,474	4	5,118	1,443	0,218
Greška	2532,223	714	3,547		
Ukupno	24834,090	753			

Korigovano ukupno	3605,931	752			
-------------------	----------	-----	--	--	--

PRILOG 34. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za GE kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	103556509.342a	37	2798824,577	8,838	0,000
Presek	334550153,039	1	334550153,039	1056,425	0,000
Bik	91087545,951	28	3253126,641	10,273	0,000
Godina	849834,972	2	424917,486	1,342	0,262
Sezona	587176,836	3	195725,612	0,618	0,603
THIminus60_kategorija	3370943,140	4	842735,785	2,661	0,032
Greška	208693014,905	659	316681,358		
Ukupno	1848504400,000	697			
Korigovano ukupno	312249524,247	696			

PRILOG 35. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za PSNS kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	151.330 ^a	37	4,090	8,203	0,000
Presek	2054,117	1	2054,117	4119,732	0,000
Bik	122,050	28	4,359	8,742	0,000
Godina	0,196	2	0,098	0,197	0,821
Sezona	3,093	3	1,031	2,067	0,103
THIminus60_kategorija	5,154	4	1,288	2,584	0,036
Greška	323,096	648	0,499		
Ukupno	8470,000	686			
Korigovano ukupno	474,426	685			

PRILOG 36. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za RS kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	1266.009 ^a	28	45,215	4,677	0,000
Presek	32662,276	1	32662,276	3378,932	0,000
Bik	904,640	19	47,613	4,926	0,000
Godina	231,785	2	115,892	11,989	0,000
Sezona	62,385	3	20,795	2,151	0,093
THIminus60_kategorija	71,576	4	17,894	1,851	0,118
Greška	3605,585	373	9,666		
Ukupno	161815,000	402			
Korigovano ukupno	4871,595	401			

PRILOG 37. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za OSNZ kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	77.917 ^a	28	2,783	2,548	0,000
Presek	385,377	1	385,377	352,809	0,000
Bik	51,501	19	2,711	2,482	0,001
Godina	15,381	2	7,691	7,041	0,001
Sezona	1,456	3	0,485	0,444	0,721
THIminus60_kategorija	9,152	4	2,288	2,095	0,082
Greška	302,570	277	1,092		
Ukupno	4115,000	306			
Korigovano ukupno	380,487	305			

PRILOG 38. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za PSNZ kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	.530 ^a	28	0,019	3,646	0,000
Presek	9,979	1	9,979	1920,486	0,000
Bik	0,378	19	0,020	3,833	0,000
Godina	0,037	2	0,019	3,602	0,029
Sezona	0,010	3	0,003	0,634	0,594
THIminus60_kategorija	0,023	4	0,006	1,105	0,354
Greška	1,455	280	0,005		
Ukupno	88,127	309			
Korigovano ukupno	1,985	308			

PRILOG 39. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za BZD kada je THI meren na početku spermatogeneze

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	3824573.086 ^a	28	136591,896	5,787	0,000
Presek	16465710,196	1	16465710,196	697,642	0,000
Bik	2311409,102	19	121653,111	5,154	0,000
Godina	175782,330	2	87891,165	3,724	0,025
Sezona	433038,099	3	144346,033	6,116	0,000
THIminus60_kategorija	395470,245	4	98867,561	4,189	0,003
Greška	8378697,161	355	23601,964		
Ukupno	101769825,000	384			
Korigovano ukupno	12203270,247	383			

PRILOG 40. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za KE kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	1446.323 ^a	40	36,158	10,749	0,000
Presek	8491,939	1	8491,939	2524,578	0,000
Bik	1183,718	31	38,184	11,352	0,000
Godina	24,728	2	12,364	3,676	0,026
Sezona	17,307	3	5,769	1,715	0,162
THI_kategorija	97,466	4	24,366	7,244	0,000
Greška	3282,978	976	3,364		
Ukupno	31340,830	1017			
Korigovano ukupno	4729,301	1016			

PRILOG 41. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za GE kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	166516070.340 ^a	40	4162901,758	13,454	0,000
Presek	442024637,407	1	442024637,407	1428,593	0,000
Bik	124909676,745	31	4029344,411	13,023	0,000
Godina	1668724,536	2	834362,268	2,697	0,068
Sezona	947091,166	3	315697,055	1,020	0,383
THI_kategorija	5898026,092	4	1474506,523	4,766	0,001
Greška	278471387,896	900	309412,653		
Ukupno	2213589800,000	941			
Korigovano ukupno	444987458,236	940			

PRILOG 42. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za PSNS kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	286.868 ^a	40	7,172	13,308	0,000
Presek	2707,130	1	2707,130	5023,375	0,000
Bik	197,365	31	6,367	11,814	0,000
Godina	3,103	2	1,552	2,879	0,057
Sezona	1,514	3	0,505	0,937	0,422
THI_kategorija	3,426	4	0,857	1,590	0,175
Greška	475,854	883	0,539		
Ukupno	10490,000	924			
Korigovano ukupno	762,723	923			

PRILOG 43. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za RS kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	1438.407 ^a	30	47,947	4,485	0,000
Presek	40787,784	1	40787,784	3815,747	0,000
Bik	1138,585	21	54,218	5,072	0,000
Godina	155,793	2	77,896	7,287	0,001
Sezona	56,387	3	18,796	1,758	0,154
THI_kategorija	58,722	4	14,681	1,373	0,242
Greška	4649,859	435	10,689		
Ukupno	189302,000	466			
Korigovano ukupno	6088,266	465			

PRILOG 44. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za OSNZ kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	86.782 ^a	30	2,893	2,460	0,000
Presek	478,938	1	478,938	407,357	0,000
Bik	56,588	21	2,695	2,292	0,001
Godina	21,755	2	10,878	9,252	0,000
Sezona	0,910	3	0,303	0,258	0,856
THI_kategorija	7,247	4	1,812	1,541	0,190
Greška	391,515	333	1,176		
Ukupno	4826,000	364			
Korigovano ukupno	478,297	363			

PRILOG 45. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za PSNZ kada je THI meren na dan uzimanja sperme

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	.557 ^a	30	0,019	3,049	0,000
Presek	13,097	1	13,097	2150,013	0,000
Bik	0,420	21	0,020	3,287	0,000
Godina	0,064	2	0,032	5,291	0,005
Sezona	0,002	3	0,001	0,113	0,953
THI_kategorija	0,016	4	0,004	0,651	0,626
Greška	2,047	336	0,006		
Ukupno	104,153	367			
Korigovano ukupno	2,604	366			

PRILOG 46. Analiza varijanse ispitivanih fiksnih uticaja bika, godine, sezone i uticja toplotnog stresa za BZD je THI meren na dan uzimanja sperme

Izvor	Tip III Zbir kvadrata	Stepeni slobode	Kvadratni prosek	F	Sig.
Korigovani model	3913577.667 ^a	30	130452,589	5,347	0,000
Presek	20403730,522	1	20403730,522	836,290	0,000
Bik	2539284,586	21	120918,314	4,956	0,000
Godina	335562,562	2	167781,281	6,877	0,001
Sezona	148410,920	3	49470,307	2,028	0,109
THI_kategorija	240104,841	4	60026,210	2,460	0,045
Greška	10173928,331	417	24397,910		
Ukupno	115805961,000	448			
Korigovano ukupno	14087505,998	447			

8. BIOGRAFIJA AUTORA

Nikola Popović, rođen je 06. decembra 1988. godine u Beogradu.

Nakon osnovne škole Stevan Dukić u Beogradu i Prve beogradske gimnazije, upisao je Poljoprivredni fakultet u Zemunu, smer Zootehnika 2007. godine i završio 2012. godine, sa prosečnom ocenom 7,43 i diplomskim radom na temu: Važnije proizvodne i reproduktivne osobine crno belih goveda. Iste godine upisao je master akademske studije na Poljoprivrednom fakultetu u Zemunu, na smeru za Zootehniku, koje je završio oktobra 2013. godine, sa prosečnom ocenom 9,67 i odbranjenim master radom na temu: Procena ponovljivosti potencijalne proizvodne vrednosti osobina mlečnosti krava crno – bele rase. Doktorske studije upisao je 2014. godine na Poljoprivrednom fakultetu u Zemunu, na smeru za Zootehniku. U istraživačko zvanje - istraživač saradnik, izabran je 19.11.2018. godine.

Kandidat je zaposlen u Institutu za primenu nauke u poljoprivredi od decembra 2012. godine. Obavlja poslove iz oblasti stočarstva, selekcije i matične evidencije, a kao istraživač saradnik učestvuje u realizaciji naučnoistraživačkih projekata u oblasti stočarstva. Osim toga, radi na praćenju, analizi i realizacije savetodavnih poslova, koje po Uredbi Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede obavljaju savetodavci poljoprivrednih i savetodavnih stručnih službi Srbije. Učestvuje u organizaciji i sprovođenju edukacija i seminara savetodavaca, kao i u realizaciji savetodavnog modula „Povećanje kvaliteta mleka primenom dobre higijenske prakse na poljoprivrednim gazdinstvima“ i dr. U svakodnevnom radu bavi se selekcijom goveda na individualnim poljoprivrednim gazdinstvima.

U svojim dosadašnjim naučnim radovima najviše pažnje posvetio je istraživanjima mlečnih goveda, pre svega, selekciji goveda i mogućnostima unapređenja osobina mlečnosti i plodnosti krava. Tokom dosadašnjeg rada, kao autor i koautor, publikovao je više od 10 naučnih radova, koje je objavio u domaćim i međunarodnim časopisima:

1. **Popović Nikola**, Radmila Beskorovajni, Dragan Stanojević, Uticaj važnijih negenetskih faktora na fenotipsku varijabilnost osobina mlečnosti u populaciji crno belih goveda, XX Savetovanje o biotehnologiji, Agronomski fakultet Čačak, 20, 22, pp. 449 - 454, 978-86-87611-35-1, Srbija, 13. - 14. Mar, 2015
2. Ivetić A., Stojanović B., Ćosić M., Milošević B., Beskorovajni R., Maslovarić M., **Popović N.**, Grujičić I., (2024): The modern trends for the improvement of safety dairy production. XIth Jeep International Scientific Agribusiness Conference MAK-2024-Kopaonik „Food for the future – vision of Serbia, region and southeast Europe“. 2-4 February, 2024, Kopaonik, Serbia. Proceedings, pp 68-84. Science and Business center World, Kraljevo; Institute for plant protection and environment, Kraljevo; and Center for Research, Science, Education and Mediation, Belgrade. ISBN 978-86-80510-12-5 , COBISS.SR-ID 136334089
3. Nada Kosanović, **Nikola Popović**, Investigation of the effect of weight and meatiness of pigs on business profitability in the meat processing industry, Sustainable agriculture and rural development in terms of the Republic of Serbia strategic goals realization within the Danube region-achieving regional competitiveness-Thematic proceedings, -1, 1, 1, pp. 427 - 443, 631(4-924.5)(082)(0.034.2), 2014

4. Pušić Milovan, Radišić Robert, **Popović Nikola**, Beskorovajni Radmila, Nataša Tolimir
The effect of genotype and the number of farrowing on sow fertility traits, Fifth
International Scientific Agricultural Symposium „Agrosym 2014“, Poljoprivredni fakultet
u Istočnom Sarajevu, pp. 874 - 878, 978-99955-751-9-9, Bosna i Hercegovina, 23. - 26.
Oct, 2014.
5. R. Beskorovajni, R. Đedović, Željko Novaković, S. Petar, D. Stanojević, L. Samolovac,
N. Popović, R. Živković, Impact of relevant environmental factors on the phenotypic
variability of milk production traits of black-and-white dairy cattle in the first three
lactations., 4th International Congress New Perspectives and Challenges of Sustainable
Livestock Production, Belgrade, Institute for Animal Husbandry, Belgrade-Zemun, pp.
530 - 539, 978-86-82431-71-8, Srbija, 7. - 9. Oct, 2015

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora : Nikola Popović

Broj indeksa: 14/30

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

**Uticaj genetskih i negenetskih faktora na proizvodnju i kvalitet semena bikova holštajn
frizijske rase u uslovima toplotnog stresa**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis autora

U Beogradu, _____

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: **Nikola Popović**

Broj indeksa : **14/30**

Studijski program: **Poljoprivredne nauke, modul Zootehnika**

Naslov rada: **Uticaj genetskih i negenetskih faktora na proizvodnju i kvalitet semena bikova holštajn frizijske rase u uslovima toplotnog stresa**

Mentor: **prof. dr Radica Đedović, redovni profesor**

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao radi pohranjivanja u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora

U Beogradu, _____

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Uticaj genetskih i negenetskih faktora na proizvodnju i kvalitet semena bikova holštajn frizijske rase u uslovima toplotnog stresa

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo (CC BY)

2. ☒ Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)

5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.

Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).Type equation here.

Potpis autora

U Beogradu, _____

1. Autorstvo. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.

2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.

5. Autorstvo – bez prerada. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.