

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број захтева: 277/1-7.1.
Датум: 30.10.2013. године

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на извештај о урађеној докторској дисертацији

Молимо да, сходно члану 46. став 5. тачка 4. Статута Универзитета у Београду (“Гласник Универзитета” број 131/06), дате сагласност на извештај о урађеној докторској дисертацији кандидата мр Ramadan-a Salem-a Ahsyee-a.

Кандидат **мр Ramadan Salem Ahsyee**, пријавио је докторску дисертацију под називом: «ГЕНЕТИЧКА ДИВЕРГЕНТНОСТ ЦРВЕНЕ ДЕТЕЛИНЕ ДЕТЕРМИНИСАНЕ МОРФОЛОШКИМ ОСОБИНАМА И SSR МОЛЕКУЛАРНИМ МАРКЕРИМА».

из научне области Ратарство и повртарство.

Универзитет је дана 13.04.2011. године, својим актом 02 број 06-5246/14 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: «ГЕНЕТИЧКА ДИВЕРГЕНТНОСТ ЦРВЕНЕ ДЕТЕЛИНЕ ДЕТЕРМИНИСАНЕ МОРФОЛОШКИМ ОСОБИНАМА И SSR МОЛЕКУЛАРНИМ МАРКЕРИМА».

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације мр Ramadan-a Salem-a Ahsyee, образована је на седници одржаној 29.05.2013. године, одлуком Факултета број 356/8-5.1., у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област

1. др Гордана Шурлан-Момировић, редовни професор, Генетика,
2. др Томислав Живановић, редовни професор, Генетика,
3. др Сања Васиљевић, виши научни сарадник, Генетика и оплемењивање,
4. др Драган Перовић, виши научни сарадник, Генетика и оплемењивање,
5. др Славен Продановић, редовни професор, Оплемењивање биљака.

Наставно-научно веће Пољопривредног факултета прихватило је извештај Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације, на седници одржаној 30.10.2013. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 277/1-7.1.
Датум: 30.10.2013. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 73. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 30.10.2013. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднео **мр RAMADAN SALEM ANSYEE** и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«ГЕНЕТИЧКА ДИВЕРГЕНТНОСТ ЦРВЕНЕ ДЕТЕЛИНЕ ДЕТЕРМИНИСАНЕ МОРФОЛОШКИМ ОСОБИНАМА И SSR МОЛЕКУЛАРНИМ МАРКЕРИМА».**

II Универзитет је дана 13.04.2011. године, својим актом 02 број 06-5246/14 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у часопису међународног значаја:

Ahsyee R Salem, Al-Sloge O, Calic Irena, Brankovic Gordana R, Zoric Miroslav, Momirovic Una, Vasiljevic Sanja, Surlan-Momirovic Gordana: Genetic Diversity of Alfalfa Domesticated Varietal Populations from Libyan Genbank Revealed by Rapd Markers. ARCHIVES OF BIOLOGICAL SCIENCES, (2013), vol. 65 br. 2, str. 595-602

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору др Гордани Шурлан-Момировић, редовном професору, Институту за ратарство и повртарство, Студентској служби и архиви.

НАСТАВНО - НАУЧНОМ ВЕЋУ ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА

УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

Предмет: Извештај Комисије о оцени урађене докторске дисертације
мр Ramadana Salema Ahsyee

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду од 29. 05. 2013 године, именована је Комисија за оцену и одбрану урађене докторске дисертације Ramadana Salema Ahsyee, асистента Биолошког факултета у Триполију у Либији под насловом: „Генетичка дивергентност црвене детелине детерминисане морфолошким особинама и SSR молекуларним маркерима“.

Комисија у саставу: др Гордана Шурлан Момировић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Томислав Живановић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Сања Васиљевић, виши научни сарадник Института за ратарство и повртарство у Новом Саду, др Драган Перовић, виши научни сарадник, Julius Kuehn-Institute (JKI), Federal Research Centre for Cultivated Plants Institute for Resistance Research and Stress Tolerance, Quedlinburg, Немачка и др Славен Продановић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, прегледала је и оценила докторску дисертацију и подноси Већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација мр Ramadana Salema Ahsyee, написана је на 107 страница енглеском језику, у оквиру којих се налазе 14 табела, 11 графикана и 6 слика. Испред основног текста налазе се резимеи са кључним речима на српском и енглеском језику, као и приказ садржаја. У докторској дисертацији је цитирано, и у литератури наведено, 171 референца.

Дисертација се састоји из следећих поглавља: Увода (стр. 1-5), Циља истраживања (стр. 6), Прегледа литературе (стр. 7-17), Радне хипотезе (стр. 18), Материјала и метода (стр. 19-27), Резултати и дискусије (стр. 28-70), Закључака (стр. 71-73), Литературе (стр. 77–89) и Прилога табелама и сликама (90-107).

2. Приказ и анализа докторске дисертације

Предмет истраживања ове дисертације је морфолошка и молекуларна евалуација (применом петнаест микросателитских маркера, који су према досадашњим нашим проучавањима и подацима из светске литературе, значајни за испитивање генетичког диверзитета) одабраног сета од 40 генотипова црвене детелине, који представља део генетичке сржне (core) колекције Одељења за крмно биље, Института за ратарство и повртарство у Новом Саду.

Кандидат мр Ramadan Salem Ahsyee је у **Уводу** истакао да црвена детелина представља једну од најважнијих крмних биљака у свету, која се гаји у различитим условима средине и један је од главних извора сточне хране. Недовољно је проучена генетика приноса, његових компоненти и квалитета црвене детелине због хетерозиготне природе проучаване врсте.

Кандидат је истакао да се као крмна биљка црвена детелина одликује високим приносом зелене крме ($40\text{--}60\text{ t ha}^{-1}$), брзом регенерацијом после косидбе и одличним квалитетом крме. Гаји се као чист усељ, а захваљујући високом индексу конкуренције, користи се за справљање травно легуминозних смеша. Насупрот великом значају црвене детелине, како с привредног тако и са агроеколошког аспекта, смањене су површине под овом крмном легуминозом, како у свету тако и у нашој земљи, због дугогодишњег повећаног интересовања сточара за гајење луцерке.

Црвена детелина (*Trifolium pratense* L.) је једина врста у секцији *Trifolium*, подсекцији *Trifolium* са основним бројем хромозома $n=7$. У природи нису пронађене полиплодне форме црвене детелине, те се нарочит значај придаје индукованој полиплоидији, превасходно у циљу повећања приноса вегетативне масе (Taylor and Quesenberry, 1996).

Насупрот огромној варијабилности која постоји у гермплазми црвене детелине, у новије време стварање и гајење побољшаних сорти је резултирало у паду броја локалних екотипова и неких дивљих форми црвене детелине. Ова ерозија генетичке дивергентности је забрињавајућа (Taylor et al., 1985), тако да се поставља питање; како сакупити, одржати, проценити и искористити специфичну гермплазму, којом се тренутно располаже. Сваки селекциони програм треба пре свега да се заснива на селекцији из постојећих сорти и локалних популација (Taylor, 1996). Колекционисање и испитивање генетички дивергентних генотипова црвене детелине је главни предуслов сваког оплемењивачког рада, у циљу стварања високоприносних и перспективних сорти.

У поглављу **Циљ истраживања** у овој докторској дисертацији мр Ramadan Salem Ahsyee је истакао да је циљ да се проучи генетички полиморфизам 40 образаца црвене детелине пратећи морфолошке особине и петнаест молекулраних SSR маркера како би се издојили генотипови за даље оплемењивање црвене детелине. У дисертацији је описана морфолошка и молекуларна варијабилност проучаваних генотипова црвене детелине, након чега се одатле могу издвојити најпожељнији генотипови за даље оплемењивање на

висок принос зелене масе и суве материје. Најважније морфолошке особине праћене су по УПОВ-у из 2001. године. На основу добијених резултата темељно је дефинисана колекција црвене детелине која ће се даље користити за оплемењивачки рад на овој биљној врсти. Истовремено је одређена генетичка дивергентност генотипова из колекције црвене детелине помоћу SSR молекуларних маркера.

У *Радној хипотези* је Ramadan Salem Ahsyee навео да на основу проучавања 40 генотипова црвене детелине на основу анализе морфолошких и молекуларних маркера очекује утврђивање високог нивоа полиморфности у анализираним морфолошким особинама и микросателитским локусима. Очекује се да ће подела испитиваних генотипова на подгрупе (подпопулације), бити у сагласности са њиховим пореклом и педигреом.

У поглављу *Преглед литературе* изнети су доступни литерарни извори из области која је предмет проучавања ове докторске дисертације. Наведени литерарни извори групишу се у четири целине. У првој групи радова налазе се они који указују на значај коришћења ове крмне легуминозе, приноси крме код нас и у свету и распрострањеност гајења. У другој целини овог поглавља приказана је ботаничка класификација врсте *Trifolium pratense* L. и таксономски односи у фамилији *Fabaceae*. Трећа група литерарних извора односи се на проучавање морфолошких особина и генетичког диверзитета, док четврта целина овог поглавља се бави применом различитих молекуларних маркера у детерминацији алелног полиморфизма код различитих генотипова црвене детелине.

Проучена литература одредила је смернице и пружила одређена практична упутства за реализацију истраживања у овој докторској дисертацији.

У поглављу *Материјал и методе* кандидат је навео да је оглед са појединачним биљкама црвене детелине постављен почетком априла месеца 2011. године у три понављања (10 биљака по понављању). Кандидат је посејао 40 образаца црвене детелине из 16 различитих земаља. Сетва одабране колекције црвене детелине је обављена у кућице на међуредно растојање 80 x 80 cm. Након сетве, у фази бокорења биљака извршено је проређивање кућице на једну биљку. Након тога је током јула месеца извршена детаљна евалуација и карактеризација испитиваних особина. Први откос је био средином јула месеца када је утврђен принос зелене масе и суве материје појединачних биљака.

Морфолошка карактеризација је извршена по протоколу УПОВ-а за следеће особине: дужина стабљике (cm), дебљина стабљике (mm), број интернодија, дужина централне лиске (mm), дебљина централне лиске (mm), облик лиске, боја листа, маљавост стабљике, интензитет обојености пега на листу, време цветања, боја цвета и форма раста.

Осим морфолошко-биолошких особина на колекцији црвене детелине је урађена евалуација за још две важне агрономске особине: принос зелене масе (g) и принос суве масе (g).

Статистичка анализа квантитативних особина подразумевала је израчунавање дескриптивних статистичких параметара, као што су просечна вредност, минималне и максималне вредности и стандардне девијације. За осам квантитативних особина које су праћене урађена је анализа варијансе (ANOVA) а поређење израчунатих вредности је рађено на основу Student-Newman-Keuls (S-N-K) теста. Израчунати су Spearman-нови коефицијенти корелације између

проучаваних особина, а потом и анализа главних компоненти (PCA). Груписање сорти по сличности вршено је UPGMA методом на основу Еуклидских дистанци морфолошких особина, а применом MEGA софтвера (Tamura et al., 2007) је конструисан дендрограм.

Ради процене диверзитета проучаваних квалитативних особина коришћен је Shannon-Weaver индекс диверзитета (Perry i McIntosh, 1991).

За молекуларну анализу је из листова младих биљака изолована тотална геномска ДНК према протоколу Rogers and Banich (1988), где је наведен поступак изолације, коришћени реагенси, начин одређивања количине и квалитета добијене ДНК, описани су услови извођења PCR реакције и детекција алела (помоћу GeneScan/Genotyper софтвера). У циљу статистичке обраде и визуализације добијених молекуларних података коришћена је анализа молекуларне варијансе (AMOVA), као и анализа главних компоненти (PCA) и UPGMA кластер анализа. У дисертацији је проучен однос између матрица дистанци заснованих на основу морфолошких особина и SSR маркера, а на основу Mantel теста.

У поглављу **Резултати истраживања и дискусија** мр Ramadan Salem Ahsyee описује генетичку различитост између 40 генотипова црвене детелине за 8 квантитативних особина. **Средње врности проучаваних особина** су показале да је број интернодија код генотипова црвене детелине варирао од 4 до 7, док је просечна вредност износила 5,33; број грана по биљци је износио од 3 до 5,59, а просечна вредност је 4,35. Висина стабљике биљака се кретала од 26,5 cm до 50,7 cm. Туцак и сар. (2009) су у својим проучавањима добили сличне вредности иако су имали шири опсег варирања вредности. Дебљина стабљике генотипова црвене детелине се кретала између 2,78 mm (E-128) и 5,35 mm (Fanny). Сличне вредности у својим истраживањима је приказао Asci (2011). Дужина централне лиске је варијала између 23,16 mm (E-97) и 36,23 mm (Kenland-Bo). Ширина централне лиске код 40 генотипова је варијала од 10,50 mm (E-97) до 20,23 mm (Kenland-Bo). Средња вредност је износила 14,25 mm. Asci (2011) је за обе наведене особине добио сличне вредности у својим истраживањима.

Принос зелене масе, као веома битне квантитативне агрономске особине, је био најнижи код генотипа Rozbehy (39,73 g) а највиши код генотипа Fanny (337 g). Туцак и сар. (2009) су проучавали 32 сорте и популације црвене детелине пореклом из 11 земаља и добили су да је популација пореклом из Хрватске имала 52% већи принос суве материје и зелене масе у поређењу са нашим проучаваним материјалом.

Принос суве материје по биљци, такође веома битне агрономске особине код генотипова црвене детелине, се кретао од 16, 4 g до 87,10 g. Такође, значајно варирање у приносу суве материје је добио Asci (2011).

Анализом варијансе (ANOVA) су утврђене статистички високо значајне разлике између 40 генотипова црвене детелине за следеће квантитативне особине: број интернодија по биљци (4,12**), број грана по биљци (3,65**), дужина стабљике (6,26**), принос суве материје (5,70**) и принос зелене масе (5,79**).

Поређењем морфолошких особина, као и приноса зелене масе и суве материје код 40 генотипова црвене детелине, је утврђена статистички значајна разлика између генотипова за већину проучаваних особина (Student-Newman-Keuls тест (S-N-K)).

Спирманов коефицијент корелације је утврдио јачину везаности појединих квантитативних особина. Коефицијенти корелације између броја

интернодија и свих седам проучаваних особина је био позитиван високо сигнификантан и кретао се од 0,34* до 0,95**. Коефицијенти корелације између приноса зелене масе и свих осталих особина су били позитивни, статистички значајни и кретали су се од 0,54** до 0,65**. Вредност коефицијената корелације између приноса суве материје и приноса зелене масе је био позитиван, веома висок и значајан и износио је 0,96**. Остале вредности коефицијената корелације између приноса суве материје и свих осталих особина су се кретали од 0,54** до 0,96**. Неки истраживачи (Wioncek et al., 1976; Васиљевић и сар, 2006) су открили значајне вредности коефицијената корелације између приноса зелене масе и дужине стабљике код црвене детелине, што сугерише на то да би селекција на дужу стабљику довела до повећања приноса зелене масе, што се и докторант у потпуности сложио са својим резултатима.

У циљу свеобухватнијег увида у одговор генотипова црвене детелине на статус испитиваног материјала (сортe и популације) и ниво плоидности генотипова, примењена је **анализа главних компоненти** (PCA). Анализа главних компоненти и GGE биplot анализа су примењене у овој дисертацији да би се омогућило проучавање квантитативних особина и да би се утврдила њихова значајност. Примењени GGE биplot модел је објаснио 83,7% укупне варијансе стандардизованих података, при том је PC1 компонента имала 62,2% а PC2 компонента 14,5% укупне варијансе. Особине које су имале позитивне PC1 вредности и које значајно утичу на проучавану варијабилност свих генотипова црвене детелине су: број интернодија, број грана, принос зелене масе и принос суве материје. Дуж осе PC2 су позитивно деловале на груписање генотипова црвене детелине следеће особине: дужина стабљике, дебљина стабљике, дужина и ширина централне лиске. На основу нивоa плоидности проучаваног материјала диплоидни генотипови су се груписали у сва четири поља док су тетраплоиди били груписани у централном делу графикана.

Анализа главних компоненти на основу 8 квантитативних особина је груписала образце црвене детелине у сва четири поља, чиме је такође показана велика генетичка варијабилност за те особине. Генотипови који су се преклапали дуж оса PCA имале су сличне вредности морфолошких особина.

Груписање генотипова на основу квантитативних особина је било у сагласности са њиховим географским пореклом из 16 различитих земаља. До сличних резултата дошли су Pagnotta et al., 2011.

Коришћењем **UPGMA кластер анализе** на основу диверзитета морфолошких особина, генотипови црвене детелине су груписани у шест кластера, док се обseg генетичких дистанци кретао од 0,56 до 10,35. У кластеру 1 су генотипови који имају највећу дужину и ширину централне лиске, највећу дужину и ширину стабљике, средњи број интернодија и грана, висок принос зелене масе и суве материје. Одатле се могу издвојити генотипови за даљу селекцију на висок принос зелене масе и суве материје, јер су ти генотипови имали и веома дугу стабљику. Други кластер има четири генотипа са највећим бројем интернодија, великим бројем грана и високим приносом зелене масе и суве материје. Кластер 3 има 10 образаца са умерено израженим вредностима испитиваних особина. Кластер 4 садржи 15 генотипова црвене детелине који поседују танку стабљику, ситније листове и низак принос зелене масе и суве материје. У кластеру 5 је издвојен само један генотип пореклом из Шведске – Fanny, што указује да је та сорта најразличитија од других генотипова црвене

детелине и веома значајна за даља укрштања у програму оплемењивања црвене детелине на висок принос зелене масе и суве материје. Та сорта има највећи број интернодија, највећу дужину и дебљину стабљике, највећи број грана, крупне листове, и веома висок принос зелене и суве материје. Кластер 6 се састоји од 6 генотипова који су пореклом из Бугарске и Словачке. Ту су углавном груписане популације са ниским вредностима за све испитиване квантитативне особине.

На основу **УПОВ података морфолошких дескриптора** црвене детелине, израчунат је индекс генетичког диверзитета (H_j) по Shannon Weaver-у. Овде су проучене квалитативне особине: време цветања, тип раста биљке, маљавост стабла, боја листа и интензитет белих мрља. Овај индекс служи за проценту генотипова који припадају сржним (core) колекцијама. Индекс генетичког диверзитета је варирао од 3,595, за особину време цветања, до 3,673, за особину боја листа. Средња вредност тог индекса је била 3,631 што указује да су квалитативне особине имале уску варијабилност за све проучаване генотипове. Тако да на основу тих резултата није било ефикасно груписање генотипова за стварање сржне колекције црвене детелине.

Помоћу УПОВ података морфолошких квалитативних особина црвене детелине израчунат је Rogers-Tanimoto индекс генетичке сличности који је у опсегу од 0 до 1 и на основу тих вредности урађена је кластер анализа и конструисан дендограм. Сви анализирани генотипови црвене детелине су груписани у 5 кластера са просечном дистанцом од 0,582. У првом кластеру било је 6 генотипова, у другом има два подкластера са 27 генотипова, трећи кластер има један узорак E-26, кластер 4 има три генотипа у оквиру кога је Шведска сорта Fanny и кластер 5 има три генотипа.

Поред проучавања морфолошких особина и приноса зелене масе и суве материје за 40 генотипова црвене детелине пореклом из 16 земаља, урађена је детерминација генотипова помоћу 15 микростелитских маркера.

SSR анализа је утврдила укупно 1146 алела добијених амплификацијом SSR прајмера, од чега је најмањи број био 24 за прајмер RCS3681, а највећи 108 за прајмер RCS1729. Сви проучавани алели су били смештени на свих 7 хромозома тако да је био покривен целокупан геном црвене детелине. Просечан број алела је износио 76,4 по комбинацији прајмера. Коефицијенти сличности добијени на основу 15 SSR маркера су се кретали у опсегу 0,50 до 0,90 у оквиру 40 проучаваних генотипова.

На основу SSR података урађена је анализа молекуларне варијансе (AMOVA). Анализа је извршена на основу нивоа плоидности и статуса сорти. На основу нивоа плоидности установљено је да је варирање од 99,91% било између група, где је такође варирање на основу статуса сорти било високо (99,41%). Други аутори су добили да је варијабилност била већа унутар популација (Campos-de-Quiroz and Ortega-Klose, 2001).

Генетичка сличност израчуната на основу SSR маркера код 40 образаца црвене детелије је била висока са свега неколико вредности које су биле ниже од 0,6. Дендограм се састојао од 10 различитих кластера. Величина кластера је варијала од 14 генотипова по кластеру до 1 генотипа. Релативне генетичке дистанце између испитиваних образаца црвене детелине нису биле потпуно у корелацији са географским дистанцама и пореклом.

Анализа главних координата (PCoA) која је такође урађена на основу SSR маркера је раздвојила генотипове боље у односу на предходни дендограм, који је

био заснован на генетичким сличностима и географском пореклу материјала, због тога што PCA анализа има три димензије за разлику од предходне која има једну димензију. Ова анализа је дала добро раздвајање генотипова црвене детелине на основу географског порекла што је у потпуности слично са закључцима других аутора (Dias et al., 2008; Zhang et al., 2010).

PCA анализа заснована на статусу сорти је показала раздвајање на 5 група, а PCA на нивоу плоидности је груписала тетраплоиде у четири групе, што је значајно за даљи оплемењивачки рад црвене детелине и избор генотипова за даља укрштања.

У овој докторској дисертацији је такође проучаван и однос између матрица дистанци заснованих на основу морфолошких особина и SSR маркера, а на основу Mantel теста. Није установљена статистички значајна зависност између коефицијената Еуклидских и Jaccard дистанци ($0,076^{ns}$), као ни између Rogers-Tanimoto и Jaccard дистанци ($0,003^{ns}$). С друге стране, Mantel тест је указао на значајне корелације између Rogers-Tanimoto и Еуклидских дистанци ($0,389^{**}$).

У **Закључцима** је мр Ramadan Salem Ahsyee на основу проучавања квантитативних и квалитативних особина код 40 узорака црвене детелине, истакао значајан опсег фенотипске варијабилности код испитиваног материјала.

Анализом варијансе су утврђене статистички високо значајне разлике између 40 генотипова црвене детелине за следеће квантитативне особине: број интернодија по биљци ($4,12^{**}$), број грана по биљци ($3,65^{**}$), дужина стабљике ($6,26^{**}$), принос суве материје ($5,70^{**}$) и принос зелене масе ($5,79^{**}$).

Коефицијенти корелације између броја интернодија и свих седам проучаваних особина је био позитиван високо сигнификантан и износио је од $0,34^*$ до $0,95^{**}$. Коефицијенти корелације између приноса зелене масе и свих осталих особина су били позитивни, статистички значајни и чије су се вредности кретали од $0,54^{**}$ до $0,65^{**}$. Вредност коефицијената корелације између приноса суве материје и приноса зелене масе је био позитиван, веома висок и значајан и износио је $0,96^{**}$.

Анализа главних компоненти и GGE биplot модел је објаснио $83,7\%$ укупне варијансе стандардизованих података, при том је PC1 компонента имала $62,2\%$ а PC2 компонента $14,5\%$ укупне варијансе. Особине које су имале позитивне PC1 вредности и које значајно утичу на проучавану варијабилност свих генотипова црвене детелине су: број интернодија, број грана, принос зелене масе и принос суве материје. Дуж осе PC2 су позитивно деловале на груписање генотипова црвене детелине следеће особине: дужина стабљике, дебљина стабљике, дужина и ширина централне лиске. На основу нивоа плоидности проучаваног материјала диплоидни генотипови су се груписали у сва четири поља док су тетраплоиди били груписани у централном делу графикана.

На основу варирања квантитативних морфолошких особина, генотипови црвене детелине су груписани у шест кластера, где је обим генетичких дистанци износио од $0,56$ до $10,35$.

Помоћу УПОВ података морфолошких квалитативних особина црвене детелине израчунат је Rogers-Tanimoto индекс генетичке сличности и на основу тих вредности урађена је кластер анализа са кластерима. Сви анализирани генотипови црвене детелине су груписани у 5 кластера са просечном дистанцом од $0,582$. У првом кластеру било је 6 генотипова, у другом има два подкластера са

27 генотипова, трећи кластер има један узорак E-26, кластер 4 има три генотипа у оквиру кога је Шведска сорта Fanny и кластер 5 има три генотипа.

SSR анализа је утврдила укупно 1146 алела добијених амплификацијом SSR прајмера, од чега је најмањи број био 24 за прајмер RCS3681, а највећи 108 за прајмер RCS1729. Сви проучавани алели су били смештени на свих 7 хромозома тако да је био покривен целокупан геном црвене детелине. Просечан број алела је износио 76,4 по комбинацији прајмера. Коефицијенти сличности добијени на основу 15 SSR маркера су се кретали у опсегу 0,50 до 0,90 у оквиру 40 проучаваних генотипова.

Такође је на основу SSR података урађена је анализа молекуларне варијансе (AMOVA). Анализа је извршена на основу нивоа плоидности и статуса сорти. На основу нивоа плоидности установљено је да је варирање од 99,91% било између група, где је такође варирање на основу статуса сорти било високо (99,41%).

Анализом квантитативних и квалитативних особина код одабраног материјала црвене детелине, закључује се да фенотипски диверзитет испитиваних генотипова црвене детелине може бити значајан у одабиру родитеља у даљим програмима оплемењивања. За даљи оплемењивачки рад на црвеној детелини у циљу стварања сорти са високим приносом зелене масе и суве материје нарочито се издвајају следећи генотипови: Fanny, NCPGRU 1, Bombi, Kenland-Bo, Jubilatka NCPGRU6, Cremonese, Krano и Mir.

3. Закључак и предлог

Докторска дисертација мр Ramadana Salema Ahsyee под насловом „Генетичка дивергентност црвене детелине детерминисане морфолошким особинама и SSR молекуларним маркерима“ представља оригиналан научни рад из области генетике и оплемењивања црвене детелине. Циљ истраживања ове докторске дисертације је да се проучи генетички полиморфизам 40 образаца црвене детелине, различитог географског порекла, пратећи морфолошке особине и петнаест молекулраних SSR маркера како би се издојили генотипови за даље оплемењивање црвене детелине. Рад на SSR маркерима је по први пут у нашој земљи употпунио евалуацију колекције од 40 образаца црвене детелине из Института за ратарство и повртарство у Новом Саду. Резултати које је кандидат добио у својим истраживањима представљају оригинална решења и драгоцено искуство за даљи оплемењивачки рад на црвеној детелини. Мр Ramadan Salema Ahsyee је на основу целокупне анализе издвојио најперспективније генотипове црвене детелине за даљи оплемењивачки рад на стварању сорти са високим приносом зелене масе и суве материје а то су : Fanny, NCPGRU 1, Bombi, Kenland-Bo, Jubilatka NCPGRU6, Cremonese, Krano и Mir. Истраживања у овој дисертацији су урађена у потпуности према пријави кандидата.

Узимајући у обзир све наведено Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију мр Ramadana Salema Ahsyee под насловом „Генетичка дивергентност црвене детелине детерминисане морфолошким особинама и SSR молекуларним маркерима“ и предлаже Наставно–научном већу Пољопривредног факултета у

Београду да ову оцелу усвоји, чиме би се пружила могућност кандидату да приступи јавној одбрани ове докторске дисертације.

У Београду, 06. 06. 2013. године

Чланови Комисије:

Др Гордана Шурлан Момировић, редовни професор, Пољопривредни факултет Универзитета у Београду (Генетика)

Др Томислав Живановић, редовни професор, Пољопривредни факултет Универзитета у Београду (Генетика)

Др Сања Васиљевић, виши научни сарадник, Институт за ратарство и повртарство у Новом Саду (Генетика и оплемењивање црвене детелине)

Др Драган Перовић, виши научни сарадник, Julius Kuehn-Institute (JKI), Federal Research Centre for Cultivated Plants Institute for Resistance Research and Stress Tolerance, Quedlinburg, Немачка (Биотехнологија и оплемењивање биљака)

Др Славен Продановић, редовни професор, Пољопривредни факултет Универзитета у Београду (Оплемењивање биљака)

Прилог I

Рад који је на SCI листи:

Ahsyee R Salem, Al-Sloge O, Calic Irena, Brankovic Gordana R, Zoric Miroslav, Momirovic Una, Vasiljevic Sanja, Surlan-Momirovic Gordana: Genetic Diversity of Alfalfa Domesticated Varietal Populations from Libyan Genbank Revealed by Rapid Markers. ARCHIVES OF BIOLOGICAL SCIENCES, (2013), vol. 65 br. 2, str. 595-602