

Факултет Пољопривредни

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

32/9-5.1.

(Број захтева)

26.06.2019.

(Датум)

Веће научних области
биотехничких наука

(Назив већа научне области коме се захтев
упућује)

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на одлуку о прихватању теме докторске дисертације и о одређивању ментора

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 186/15-пречишћени текст и 189/16), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације:

„Утицај формирања азотофиксирајућих нодула на морфолошке особине, принос и квалитет
семена соје“

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ Ратарство и повртарство

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

1. Владимир, Остоја, Миладиновић

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета,
студијски програм):

Универзитет у Београду

Пољопривредни факултет - Студијски програм
Заштита животне средине у пољопривреди

3. Година завршетка
претходног нивоа студија: 2011.

4. Година уписа на докторске студије: 2012/2013.

5. Назив студијског програма
докторских студија:

Пољопривредне науке, модул Ратарство и повртарство

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ:

Име и презиме ментора: Зора Дајић Стевановић

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Radonjic, D., Djordjevic, N. Z., Markovic, B., Markovic, M., Stesevic, D., **Dajic-Stevanovic, Z.P.** (2019): Effect of phenological phase of dry grazing pasture on fatty acid composition of cows' milk. Chilean journal of agricultural research, 79 (2), 278-287.
2. Janackovic, P. T., Gavrilovic, M. M., Rancic, D. V., **Dajic-Stevanovic, Z. P.**, Giweli, A. A.M., Marin, P. D. (2019): Comparative anatomical investigation of five Artemisia L. (Anthemideae, Asteraceae) species in view of taxonomy Info, Brazilian journal of botany, vol. 42 br. 1, str. 135-147.
3. Gavrilovic, M. M., Rancic, D.V., Skundric, T., **Dajic-Stevanovic, Z. P.**, Marin, P. D., Garcia-Jacas, N., Alfonso, S., Janackovic, P. T. (2019): Anatomical Characteristics of Xeranthemum L. (Compositae) Species: Taxonomical Insights and Evolution of Life form, Pakistan journal of botany, (2019), vol. 51 br. 3, str. 1007-1019
4. Veljkovic, B. P., Djordjevic, N. Z., Dolicanin, Z. C., Licina, B. Z., Topuzovic, M. D., Stankovic M. S., Zlatic, N. M., **Dajic-Stevanovic, Z. P.** (2019): Antioxidant and Anticancer Properties of Leaf and Fruit Extracts of the Wild Raspberry (Rubus idaeus L.) Notulae botanicae horti agrobotanici cluj-napoca, , vol. 47 br. 2, str. 359-367.
5. **Dajic-Stevanovic, Z. P.**, Bosnjak-Neumueller, J., Pajic-Lijakovic, I. S., Jog, R., Vasiljevic, M. (2018): Essential Oils as Feed AdditivesFuture Perspectives, Molecules, vol. 23 br. 7, 1-20.

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће Пољопривредног факултета

на седници одржаној 26.06.2019. размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Душан Живковић

- Прилог
1. Одлука Наставно-научног већа о прихватању теме и одређивању ментора
 2. Извештај Комисије

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 32/9-5.1.
Датум: 26.06.2019. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 44. Статута Пољопривредног факултета (2018. година), Наставно-научно веће факултета на седници одржаној 26.06.2019. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени пријаве теме докторске дисертације коју је поднео **ВЛАДИМИР МИЛАДИНОВИЋ, мастер** и одобрава израда дисертације под насловом: **«УТИЦАЈ ФОРМИРАЊА АЗОТОФИКСИРАЈУЋИХ НОДУЛА НА МОРФОЛОШКЕ ОСОБИНЕ, ПРИНОС И КВАЛИТЕТ СЕМЕНА СОЈЕ».**

II За ментора се именује др Зора Дајић Стевановић, редовни професор.

III На одлуку о прихватању теме докторске дисертације и одређивању ментора сагласност даје одговарајуће Веће научних области Универзитета у Београду.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Душан Живковић)

Доставити: кандидату, ментору, Институту за ратарство и повртарство, Студентској служби и архиви.

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**
Датум: 22. 05. 2019.

Предмет: Извештај Комисије за оцену пријаве теме докторске дисертације Владимира Миладиновића, мастер заштите животне средине у пољопривреди

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду број: 32/7-3.3. од 24.04.2019. године, именовани смо у Комисију за оцену пријаве докторске дисертације под насловом: **»Утицај формирања азотофиксирајућих нодула на морфолошке особине, принос и квалитет семена соје«**, кандидата Владимира Миладиновића, мастер заштите животне средине у пољопривреди. На основу прегледа пријаве докторске дисертације, Комисија у саставу: др Зора Дајић Стевановић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Драгосав Мутавцић, научни сарадник Института за мултидисциплинарна истраживања Универзитета у Београду, и др Илинка Пећинар, доцент Пољопривредног факултета Универзитета у Београду подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. НАСЛОВ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Кандидат Владимир Миладиновић, мастер заштите животне средине у пољопривреди, поднео је пријаву за израду докторске дисертације, коју је Комисија прихватила под насловом: **„Утицај формирања азотофиксирајућих нодула на морфолошке особине, принос и квалитет семена соје“**. Овај наслов у потпуности одговара предложеном програму и предмету истраживања које кандидат планира да оствари током израде дисертације.

2. ПРЕДМЕТ И ПРОГРАМ ИСТРАЖИВАЊА

У образложењу пријављене теме за израду докторске дисертације кандидат детаљно објашњава порекло, таксономску припадност и морфолошке карактеристике и представља досадашње податке о производњи соје у Србији и на глобалном нивоу. Соја је гајена биљка која потиче из области Манџурије у североисточној Кини. Ова биљна врста се хиљадама година гајила у Кини, а њена озбиљнија производња у Европи и Сједињеним Америчким Државама започиње почетком двадесетог века (Smith and Huysen, 1987). Соја је током 2016. и 2017. године у свету гајена на површини од 120, односно 126 милиона хектара. Највеће површине под сојом у 2017. години имале су Сједињене Америчке Државе, 36,2 милиона хектара, затим Бразил са 34,7 милиона хектара, потом Аргентина са 19,1 милиона хектара, и Индија са 10,5 милиона хектара. Највећи европски произвођачи соје су Русија и Украјина са 2,5, односно 2 милиона хектара (USDA, 2017; World agricultural production, www.fas.usda.gov).

Просечан принос по хектару произведене соје у свету, у 2017. години износио је 2760 kg. Највећи принос по хектару имале су Сједињене Америчке Државе (3330 kg/ha), затим Бразил (3080 kg/ha), и Аргентина (2980 kg/ha) (www.fas.usda.gov). Површине под сојом у Србији у 2017. односно 2016. години износиле су око 200 000 хектара, односно 190 000 хектара. Принос соје у Србији у 2016. години, износио је 3510 kg/ha (www.fas.usda.gov).

Гајена соја, *Glycine max* (L.) Merr., припада фамилији Fabaceae, подфамилији Papilionoideae, трибусу Phaseoleae, роду *Glycine* Willd. Соја је једногодишња биљка. Стабло је усправно и чланковито, висине 40 – 150 cm. Бочне гране се развијају из коленца у доњем делу стабла. На број бочних грана директно утиче густина сетве. При гушћој сетви, развија се мањи број бочних грана (Гламочлија, 2004). Лист соје је трочлано сложен. Облик лисне плоче соје је овалан, јајолик или округао. Површина листа обрасла је финим длачицама. Цветови соје формирају се у пазуху листова. Цветови су ситни са круничним листићима беле или љубичасте боје. Плод је махуна. На једној биљци развија се од 10-300 махуна (Гламочлија, 2004). Број семена по махуни креће се од један до пет. Семе је лоптастог до благо елиптичног облика. У оквиру једне сорте јављају се значајна варирања у величини семена. Апсолутна маса семена се најчешће, креће у границама од 150-200 грама. Соја има осовински коренов систем који се састоји од примарног корена (главни корен) и латералних (бочних) коренова (Fenta et al., 2014). Корен соје у односу на друге махунарке има већу моћ упијања хранливих материја из земљишта.

У пријави докторске дисертације кандидат указује на чињеницу да сојеви бактерија *Bradyrhizobium japonicum* формирају нодуле или квржице на корену соје и живе у симбиози са биљком. Бактерије имају способност фиксације атмосферског азота у амонијачни облик, који је доступан биљкама. Биљке снабдевају бактерије за узврат са угљеним хидратима, углавном у облику малата, као храну и извор енергије за фиксирање азота (Biswas and Gresshoff, 2014). Количина фиксiranог азота од стране уљаних махунарки на годишњем нивоу се процењује на 18,5 милиона тона. Процена је да соја фиксира 16,4 милиона тона или 77% количине у односу на све уљане махунарке (Herridge et al., 2008).

Кандидат наводи податак да је за соју изражена особина фотопериодске осетљивости, тј. њено развиће је директно условљено дужином дана. Из тог разлога извршена је подела на тринаест група зрења (Hartwig, 1973). Групе зрења соје су означене са 000, 00, 0 и са римским бројевима од I до X. У нашој земљи највише су заступљене сорте 0 (нулте) групе зрења са дужином вегетације од 110 до 120 дана, сорте I групе зрења са дужином вегетације 120 до 135 дана и сорте II групе зрења са дужином вегетације од 135 до 145 дана.

Докторанд у даљем тексту истиче да соја има велики привредни значај. Разлог је велика хранљива, енергетска и витаминска вредност семена. Зрело семе соје у свом саставу садржи у највећем проценту протеине и уља. Садржај протеина у семену комерцијалних сорти може да варира од 30 до 53% (Sediyama et al., 1999). У односу на остале легуминозе, семе соје садржи највише сировог протеина и има најбољи састав аминокиселина. Соја се карактерише највећом сварљивошћу протеина, посебно аминокиселина лизина и метионина. Сојино уље садржи пет врста масних киселина: палмитинску, стеаринску, олеинску, линолеинску и линолну. Ових 5 масних киселина заступљене су у следећим процентима: 10%, 4%, 18%, 55% и 13% (Tom et al., 2009). Садржај укупне количине протеина и уља у семену соје одређује технолошки квалитет зрна и налази се у негативној корелацији (Balesevic-Tubic et al., 2008). Смањење количине уља за 1%, доводи до повећања протеина за 2% (Schwender et al., 2003). Соја се у исхрани људи и животиња користи термички обрађена да би се инактивирали

термолабилни антинутријенти, трипсин и химотрипсин инхибитори, затим лектин, пектин и још нека друга једињења (Banaszkiewicz, 2011).

У даљем образложењу предмета и програма истраживања кандидат указује на чињеницу да поред примарних метаболита које чине протеини, угљени хидрати и липиди, семе соје садржи значајну количину фенолних једињења из групе изофлавоана. Сојини изофлавоани постоје у до сада описаних 12 различитих изоформи у четири главне хемијске групе: агликони (даидзеин, генистеин и глицитин), глукозиди (даидзин, генистин и глицитин), ацетилглукозиди (ацетилдаидзин, ацетилгенистин и ацетилглицитин) и малонилглукозиди (малонилдаидзин, малонилгенистин и малонилглицитин) (Wang et al., 2013). Садржај изофлавоана у соји зависи од генетских и фактора животне средине, укључујући климу, земљиште, време сетве усева и услова складиштења (Zhang et al., 2014). Укупна концентрација изофлавоана је у позитивној корелацији са висином биљке, родним гранама, бројем махуна по биљци, количином семена по биљци, количином линолне и линолеинске киселине, док су значајне негативне корелације са садржајем олеинске киселине и уља, што указује на то да се концентрација изофлавоана може узети као фактор који утиче на различите пожељне карактеристике семена (Zhang et al., 2014). Истраживањима Vyn et al. (2002) и Seguin et al. (2004), је утврђена позитивна корелација између приноса семена и укупне и појединачне заступљености изофлавоана у семену.

У даљем тексту кандидат указује на добро познат податак да махунарке, односно биљне врсте из фамилије Fabaceae имају способност остваривања симбионтског односа са азотофиксирајућим бактеријама. Изградња симбиотског односа између корена соје и бактерија *Bradyrhizobium japonicum*, одвија се у више корака. Први корак представља међусобно препознавање биљке и бактерије. Биљка излучује у земљиште изофлавоане и на тај начин утиче на промену хемијског и биолошког састава ризосфере. У коренском ескудату флавоноиди који врше сигналну улогу су генистеин, даидзеин и њихови глукозиди, како наводе Sugiyama et al. (2007). Бактерије азотофиксатори одговарају покретањем Нод фактора (енг. nodulation factor), тј. производњом специфичних липохитоолигосахарида (Kondorosi, 2013) на присуство флавоноида. Бактерија помоћу Нод фактора врши инфекцију корена, тј. растућих коренских длака. Да би бактерија инфицирала корен, потребно је да се формира инфективна нит, путем које бактерија пролази и инфицира коренску длаку (Gage, 2004). На епидермалним ћелијама корена налазе се специфичне LisM рецептор киназе, које врше препознавање Нод фактора. При контакту са Нод фактором долази до сигналних каскада на генетичком и метаболитичком нивоу (Charpentier and Oldroyd, 2013). Управо сигнализација каскада има за последицу поделу и повећање броја ћелија примарне коре корена у области где је извршена инфекција и започето образовање симбиотског апарата (Gage, 2004). Бактерија путем инфекције дубоко продире унутар ћелијског зида и започиње образовање азотофиксирајуће нодуле. Биљка има потпуну контролу над симбиозом у размени хранљивих материја и одређењу свих метаболичких активности. Бактерија и биљка заједнички стварају легхемоглобин, супстанцу која представља хемопротин и заступљена је у бактериоиду у микромоларним концентрацијама. Са једне стране, легхемоглобин спречава денатурацију ензима нитрогеназе услед присуства атмосферског кисеоника, а са друге стране омогућава ћелијско дисање бактерије, испоруком потребене количине кисеоника (Singh and Varma, 2017). Биолошку фиксацију азота катализира нитрогеназа, која у азотофиксирајућој нодули катализује атмосферски азот у амонијачни облик, а затим у нитритну и нитратну форму од стране бактерија (Matsumiya et al., 2013).

Кандидат, у даљем образложењу предмета истраживања, истиче да феномен азотофиксације има велики практични значај, јер биљке које остварују ову симбиозу

имају повећан садржај азотом богатих једињења, пре свега, протеина, и тиме, веома важне нутритивне карактеристике. Механизам азотофиксације је веома комплексан, тако да нису до краја разјашњени интензитет и динамика нодулације у односу на разлике у сортама и концентрацији и врсти изофлавона, као сигналних молекула у овом типу симбиозе. Са друге стране, важно је размотрити и ефекте нодулације на испољавање различитих морфолошких особина и квалитета семена махунарки, у овом случају соје.

Предмет истраживања докторске дисертације ће бити анализа формирања азотофиксирајућих нодула на корену соје са морфо-анатомског аспекта, као и могућих утицаја изофлавона семена на процесе нодулације. Истраживањем ће бити обухваћено девет домаћих сорти, при чему је анализа нодула праћена у више сукцесивних фенофаза развића. Посебно ће бити испитивани ефекти нодулације на морфолошке особине, принос и параметре квалитета семена код одабраних сорти соје, у експерименту засновном на конвенционалној пољопривредној производњи, у условима природног водног режима, при чему је оглед постављен са претходно инокулисаним и неинокулисаним семеном. Испитиваће се низ морфолошких особина соје у вези са ефектима нодулације код одабраних домаћих сорти из различитих група зрења, као и принос и квалитет семена, применом класичних хемијских и посебних спектроскопијских метода, као што су Раманова и ФТИР (FTIR- Fourier transform infrared) спектроскопија.

3. НАУЧНИ ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Најзначајни циљеви истраживања у овој докторској дисертацији су да се анализирају и дефинишу: а) разлике у анатомској грађи нодула током сукцесивних фенофаза развића соје, код претходно инокулисаних и неинокулисаних одабраних домаћих сорти на земљишту где је претходно гајена соја; б) утицаји концентрације изофлавона у семену на интензитет нодулације (број и величину нодула) и карактеристике образовања азотофиксаторних нодула, као и могући утицаји на морфолошке особине и квалитет семена соје; в) утицаји инокулације са *Bradyrhizobium japonicum* на морфолошке особине одабраних сорти соје; г) ефекти инокулације, као и интензитета нодулације на принос и квалитет семена соје.

4. ОСНОВНЕ ХИПОТЕЗЕ ОД КОЈИХ СЕ ПОЛАЗИ

На основу претходних истраживања пошло се од претпоставки да ће различите сорте соје показати разлике: у интензитету нодулације као и у анатомским особинама нодула током различитих фенофаза развића. Такође се очекује да ће различите сорте испољити разлике у морфолошким карактеристикама, приносу и квалитету семена, а разлике ће се испољити и унутар сорте, зависно од инокулације. Претпоставка је да ће инокулисане сорте испољити већи степен нодулације, без обзира на присуство азотофиксирајућих бактерија у земљишту, и да ће различите сорте соје у зависности од концентрације различитих изофлавона показати разлике у процесу нодулације.

5. МЕТОДЕ И МАТЕРИЈАЛ КОЈИ ЋЕ СЕ КОРИСТИТИ У ИСТРАЖИВАЊИМА

Кандидат ће у реализацији програма истраживања користити следеће методе: метод пољског огледа, лабораторијско-аналитичке методе и математичко-статистичке методе у анализи добијених резултата.

5.1 Биљни материјал

У експерименту ће бити коришћено 9 домаћих сорти соје које су створене у Институту за ратарство и повртарство у Новом Саду, и у фирми Делта Селсем. Сорте соје које ће се користити у огледу су из три групе зрења: нулта (0) група зрења, прва (I) група зрења и друга (II) група зрења. Сорте Института за ратарство и повртарство Нови Сад су: Галина, Принцеза (0 група зрења), Сава, Аполо (I група зрења) и Тријумф (II група зрења). Сорте соје фирме Делта Селсем: Дана, Дукат (0 група зрења), Галеб (I група зрења) и Горштак (II група зрења).

5.2 Опис огледа

Оглед ће бити постављен на подручју јужног Баната, на огледном пољу Института Тамиш у Панчеву, атар села Качарево, на земљишту типа чернозем. Биће постављен једногодишњи оглед у конвенционалном начину производње соје у четворогодишњем плодореду. Оглед је двофакторијалан, при чему ће се као фактори третирати „сорта“ и „инокулација“. Земљиште ће бити испитано применом стандарних метода (Џамић и сар., 1996) и то: а) Реакција земљишта pH – по потенциометријској методи, б) Укупни азот (%N) – метода по Kjeldahl-у, в) Лакоприступачни азот (NH_4^+ , NO_3^-) – метода модиф. по Bremner-у, г) Лакоприступачни фосфор и калијум – Al-методом по Egner-Riehm-у, д) Садржај хумуса – методом Turina модиф. по Simakovoј.

Пратиће се метеоролошки параметри у току вегетације (вредности температуре и количина падавина) за локалитет Качарево. Као извор података користиће се база Хидрометеоролошког завода Републике Србије (www.hidmet.sr.gov.rs).

Сетва ће бити обављена ручно почетком априла. Оглед ће бити постављен у две једнаке парцеле. Обе парцеле ће бити посејане са свих девет сорти соје, с тим што ће у једној парцели бити посејани узорци инокулисани бактеријским сојем *Bradyrhizobium japonicum*, а на другој парцели ће бити посејани неинокулисани узорци. Обе парцеле ће садржати по три понављања за сваку сорту. Девет сорти у три понављања ће чинити 27 парцелица, тако да ће укупан оглед обухватити 54 парцелице димензија 5x2 метра. Свака парцелица ће бити посејана са по четири реда биљака. Централна два за узорковање, а први и четврти за изолацију. Размак између редова у оквиру једне парцелице је 0,5 m, колики је и размак између парцелица. Размак између понављања је 1 m. Размак између биљака у реду зависи од групе зрења. Код 0 групе, размак је 4 cm, - 125 биљака у реду. Код I групе, размак је 4.5 cm - 113 биљака у реду. Код II групе зрења, размак је 5 cm - 100 биљака у реду. Укупна површина плота је 35m x 18m, а то је 630 m².

Узорковање нодула са корена соје вршиће се сукцесивно током различитих фенофаза развића биљке, ради испитивања анатомске структуре азотофиксаторних квржица (нодула) соје током развића. Узорковани нодули ће бити фиксирани у 50% етанолу. Овако сачуване нодуле користиће се за израду трајних микроскопских препарата.

Азотофиксаторне нодуле узорковаће се током следећих фенофаза развића соје:

1. Фенофаза - три тролиста.
2. Фенофаза - четири тролиста.
3. Фенофаза - шести тролист
4. Фенофаза - почетак цветања.
5. Фенофаза - пуно цветање.
6. Фенофаза - завршно цветање.
7. Фенофаза – понека махуна достигла пуну дужину.

8. Фенофаза – 10% махуна достигло пуну дужину.
9. Фенофаза – 30% махуна достигло пуну дужину.
10. Фенофаза – 50% махуна достигло пуну дужину.
11. Фенофаза – 70% махуна достигло пуну дужину.
12. Фенофаза – 50% махуна у пуној зрелости.

5.3 Морфолошки параметри

За анализу морфолошких параметара биће узето 30 биљака по сорти (10 биљака х 3 понављања) у фази пуне зрелости зрна.

Оцењиваће се следеће особине:

1. Висина биљке (cm),
2. Број махуна по биљци,
3. Број бочних грана,
4. Број спратова,
5. Висина биљке до прве махуне (cm),
6. Тежина махуна са семеном по биљци,
7. Тежина зрна по биљци,
8. Принос семена (kg/ha),
9. Број нодула на корену биљке

5.4. Анатомска карактеризација азотофиксаторних нодула током различитих фенофаза развића соје

Анатомска анализа нодула са корена соје вршиће се на нодулама узоркованим сукцесивно током 12 различитих фенофаза развића. По бележењу укупног броја нодула, у три понављања, извршиће се њихово узорковање у циљу испитивања анатомске структуре. Узорковаће се увек нодуле приближно исте фазе, тј. средње зреле нодуле. Део нодула биће замрзнут, а део ваздушно сушен, ради мерења њихове свежје и суве масе. Узорци за анатомска испитивања ће бити фиксирани у 50% етанолу, а микроскопски препарати за светлосну микроскопију ће бити припремљени стандардном парафинском процедуром (Ruzin, 1999). Дехидратација ће бити обављена провођењем кроз серију алкохола различите концентрације, затим кроз ксилол до калупљења у парафин. Парафински калупи ће бити сечени миротомом LEICA SM 2000 R, а добијени пресеци дебљине 6-10 μm биће бојени хистолошким бојама (сафранином (safranin) и алцијан плавим (alcian blue)). Узорци ће бити посматрани помоћу светлосног микроскопа LEICA DMLS и фотографисани дигиталном камером LEICA DC 300. Мерења микроскопских препарата ће се обавити коришћењем софтверског пакета LEICA IM 1000. Узорци ће бити припремљени у Хистолошкој лабораторији Пољопривредног факултета Универзитета у Београду. Код нодула свих сорти (са и без инокулације) биће праћени следећи параметри:

1. Дебљина плуте,
2. Дебљина склеренхима,
3. Дебљина коре,
4. Број проводних снопића,
5. Површина целог нодула,
6. Површина ризобијум поља

5.5. Методе које ће бити примењене у анализи хемијског састава семена

У оквиру експерименталног дела докторске дисертације биће праћени параметри хемијског састава семена и то: примарних метаболита (протеини, уља, укупни азот) као мере квалитета семена, на материјалу добијеном на крају вегетационог периода соје, као и секундарних метаболита, тј. изофлавона на почетном материјалу, како би се испитала могућа веза између концентрације појединих изофлавона у семену и интензитета формирања азотофиксирајућих нодула.

Одређивање садржаја протеина и уља

Одређивање садржаја азота у семену соје биће извршено методом по Kjeldahl-у (АОАС 976.05), а садржај укупних протеина биће прерачунат множењем добијене вредности са фактором за протеине соје (6.25). Садржај уља одредиће се по Soxhlet-у, екстракцијом уља 8h на 70°C (ААСС 30-25.01). Резултати ће бити изражени као процентуални садржај протеина или уља у сувој маси семена. Одређивање садржаја уља и протеина обавиће се у лабораторији Института за ратарство и повртарство у Новом Саду.

Одрђивање садржаја укупних и појединачних изофлавона

Фенолна једињења су анализирана на Thermo Finnigan Surveyor HPLC систему (Thermo Scientific, San Jose, USA) са детектором диодних низова. Спектри су сакупљени у распону таласних дужина од 200-600 nm, на колони Gemini C18 (150×4.6 mm 3 μ m; Phenomenex, Torrance, USA), а компоненте идентификоване помоћу HPLC-Finnigan MS детектора и инструмента LCQ Deca XP MAX (Thermo Finnigan, San Jose, CA). Ове анализе ће бити извршене у лабораторији Биотехничког факултета у Љубљани.

Анализа хемијског састава семена Раман и ФТИР спектроскопијом

Узорци семена соје различитих сорти, биће испитивани Рамановом спектроскопијом. Раманови спектри у овом истраживању ће бити снимани у опсегу од 500-3200 cm^{-1} са XploRA Раман спектрометром Horiba Jobin Yvon, ласером Nd/YAG на таласној дужини од 532 nm при резолуцији од 600 gr/mm . Спектри ће бити обрађени помоћу Origine Pro 8.6 софтвера. Раманова спектроскопија би се у овом истраживању заснивала на детекцији доминантних примарних метаболита, са посебним освртом на идентификацију масних материја – масних киселина и њиховим степеном сатурације. Узорци семена соје различитих сорти, биће испитивани и применом АТР-ФТИР спектроскопије. АТР-ФТИР спектроскопија је, такође, неdestructивна метода, са циљем добијања спектра, који ће служити, како за идентификацију присуства главних хемијских једињења семена соје, као што су протеини и липиди, тако и за груписање узорака према утицају третмана инокулације на хемијски састав семена.

5.6. Статистичка анализа

Сви добијени подаци биће обрађени уз помоћ дескриптивне статистике, анализе варијансе (АНОВА и МАНОВА) и пратећих post hoc тестова, као и одговарајућих мултиваријационих статистичких метода, а у зависности од карактера података који се добију у експерименту.

6. СПИСАК ЛИТЕРАТУРЕ КОЈА ЋЕ СЕ КОРИСТИТИ

Референце које оправдавају избор теме докторске дисертације дате су у Прилогу 1.

7. СПИСАК САОПШТЕНИХ И ОБЈАВЉЕНИХ НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА

Списак научних и стручних радова кандидата дат је у Прилогу 2.

8. БИОГРАФИЈА КАНДИДАТА

Владимир (Остоја) Миладиновић је рођен 14.01.1980. године у Београду, Република Србија. Основну и средњу Електротехничку школу “Никола Тесла” завршио је у Београду. Дипломирао је на Пољопривредном факултету у Београду, на смеру Ратарство и повртарство, као редован студент 2009. године. Тема дипломског рада била је: “Морфолошке карактеристике савремених европских сорти пшенице”. Школске 2010/11 уписао је мастер академске студије на Пољопривредном факултету у Земуну, на студијском програму Заштита животне средине у пољопривреди. Мастер академске студије завршио је 28.12.2011. године са просечном оценом 9,85 (девет и 85/100) и оценом 10 (десет) на мастер раду. Докторске студије, модул Ратарство и повртарство на студијском програму Пољопривредне науке, Пољопривредног факултета, Универзитета у Београду, уписао је школске 2012/2013. године. Испите на докторским студијама је положио са просечном оценом 9,37. Кандидат је до сада публикувао радова (Прилог 2).

9. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

На основу анализе поднете пријаве докторске дисертације кандидата Владимира Миладиновића, мастер заштите животне средине у пољопривреди, Комисија сматра да је предложена тема актуелна и интересантна, како са научног, тако и са практичног становишта. Проблем динамике развића нодула и утицаја нодулације на морфолошке особине и квалитет семена соје није довољно расветљен, а колико је познато, анатомска анализа азотофиксирајућих нодула у различитим фенофазама развића биљке код различитих сорти соје до сада никада није вршена. Значај предложених истраживања огледа се и у разумевању механизма развића азотофиксирајућих нодула, као и испољавању различитих особина вегетативних органа и квалитета семена соје под утицајем укупних и појединачних изофлавона. По први пут ће бити примењена Раманова и инфрацрвена (ФТИР) спектроскопија у циљу испитивања утицаја третмана и интензитета нодулације на хемијски састав и квалитет семена соје. Програм истраживања је добро осмишљен, а хипотезе од којих кандидат полази су правилно постављене. Методе које су наведене у програму ове докторске дисертације су савремене, поуздане и релевантне, што ће омогућити добијање валидних резултата, који ће бити анализирани применом одговарајућих математичко-статистичких модела.

Полазећи од наведених чињеница, Комисија позитивно оцењује поднету пријаву и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати и одобри израду докторске дисертације кандидата Владимира Миладиновића под насловом који гласи: **»Утицај формирања азотофиксирајућих нодула на морфолошке особине, принос и квалитет семена соје «.**

За ментора при изради ове докторске дисертације Комисија предлаже др Зору Дајић Стевановић, редовног професора Пољопривредног факултета Универзитета у Београду.

У Београду, 22. 05. 2019. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

др Зора Дајић Стевановић, редовни професор
Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду
(Ужа научна област: Пољопривредна ботаника)

др Драгосав Мутавцић, научни сарадник
Институт за мултидисциплинарна истраживања,
Универзитета у Београду
(Ужа научна област: Хеометрија)

др Илинка Пећинар, доцент
Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду
(Ужа научна област: Пољопривредна ботаника)

Прилог 1.

СПИСАК ЛИТЕРАТУРЕ КОЈА ЋЕ СЕ КОРИСТИТИ

- AOAC Official Methods of Analysis (1990): Washington, D.C., 14th ed AOAC 976.05 Protein (Crude in Animal Feed)
- AACC International Approved Methods of Analysis (1978): 11 th Ed., St. Paul, MN. AACCI Method 30-25.01 Crude Fat in Wheat, Corn, and Soy Flour, Feeds, and Mixed Feeds
- Banaszkiewicz T. (2011): Nutritional Value of Soybean Meal, Soybean and Nutrition, Prof. Hany El-Shemy (Ed.), InTech, Available from:
<http://www.intechopen.com/books/soybean-andnutrition/nutritional-value-of-soybean-meal>
- Balesevic-Tubic, S., Djordjevic, V., Miladinovic, J., Djukic, V. and Tatic, M. (2011): Stability of soybean seed composition. *Genetika*, 43, 217-227.
- Biswas, B. Gresshoff, P.M. (2014): The Role of Symbiotic Nitrogen Fixation in Sustainable Production of Biofuels. *Int. J. Mol. Sci.* 15, 7380-7397.
- Charpentier, M., Oldroyd, G.E.D. (2013): Nuclear calcium signaling in plants. *Plant Physiol.* 163, 496–503.
- Fenta, B. A., Beebe, S.E., Kunert, K.J., Burrige, J.D., Barlow, K.M., Lynch, P.J. et al. (2014): Field phenotyping of soybean roots for drought stress tolerance. *Agronomy* 4, 418–435.
- Gage, D.J. (2004): Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogenfixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. *Microbiol.Mol. Biol.Rev.* 68, 280–300.
- Гламочлија, Ђ. (2004): Специјално ратарство. Драганић, Београд.
- Hartwig, E.E., (1973): Varietal development. In B.E. Caldwell (ed) *Soybeans: Improement, production and uses*. Agron. Monogr. 16, ASA, Madison WI, 187-207.
- Herridge, D.F., Peoples, M.B., Boddey, R.M. (2008): Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems *Plant Soil* 311, 1–18.
- Mergaert, P., Kereszt, A. (2013): A paradigm for endosymbiotic life: cell differentiation of *Rhizobium* bacteria provoked by host plant factors. *Annu. Rev. Microbiol.* 67, 611–628.
- Matsumiya Y., Horii S., Matsuno T., Kubo M. (2013): Soybean as a Nitrogen Supplier http://cdn.intechopen.com/pdfs/37899/InTech-Soybean_as_a_nitrogen_supplier.pdf
- Schwender, J., Ohlrogge, J.B., Shachar-Hill, Y. (2003): A flux model of glycolysis and the oxidative pentosephosphate pathway in developing *Brassica napus* embryos. *J Biol Chem* 278: 29442–29453.

- Sediyama, T., Teixeira, R.C., Reis, M.S. (1999): Melhoramento da soja. In: Borem, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa: UFV, 817p.
- Seguin, P., Zheng, W., Smith, D., Deng, W. (2004): Isoflavone content of soybean cultivars grown in eastern Canada. *J Sci Food Agric.* 84, 1327–1332.
- Singh, S., Varma, A. (2017): Structure, function, and estimation of leghemoglobin. In: *Rhizobium Biology and Biotechnology* (ed. A. P. Hansen, D.K. Choudhary, P.K. Agrawal and A. Varma). Springer, pp. 309-330.
- Smith, K.J. Huyser, W. (1987): World distribution and significance of soybean. In: Wilcox, J.R. (ed) *Soybeans: improvement, production and uses.* Agron. Monogr. 16, ASA, CSSA and SSSA, Madison, WI, Sec. Ed., 1-22.
- Sugiyama, A, Shitan, N, Yazaki, K. (2007): Involvement of a soybean ATP-binding cassette-type transporter in the secretion of genistein, a signal flavonoid in legume–Rhizobium symbiosis, *Plant Physiology* 144, 2000-2008.
- USDA (2017): World agricultural production www.fas.usda.gov
- Tom, E. Clemente, Edgar, B. (2009): Cahoon Soybean Oil: Genetic Approaches for Modification of Functionality and Total Content. *Plant Physiology* 151, 1030–1040.
- Vyn, T.J., Yin, X., Bruulsema, T.W., Jackson, C-J.C., Rajcan, I., Brouder, S.M. (2002): Potassium fertilization effects on isoflavone concentrations in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.], *J Agric Food Chem.* 50, 3501–3606.
- Wang, Q., Ge, X., Tian, X., Zhang, Y., Zhang, J., Zhang, P. (2013): Soy isoflavone: The multipurpose phytochemical review. *Biomedical Reports.* 1, 697-701.
- Zhang, J., Ge, Y., Han, F. (2014): Isoflavone Content of Soybean Cultivars from Maturity Group 0 to VI Grown in Northern and Southern China. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91, 1019-1028.

Прилог 2.

СПИСАК САОПШТЕНИХ И ОБЈАВЉЕНИХ НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА

- Miladinović, V.**, Ugrenović, V., Filipović, V. (2014): Methods of phytoremediation of soil. Proceedings of the 18 International Eco-Conference, Novi Sad, Serbia, pp. 117–125.
- Jevremović, S., Rekanović, E., Mihajlović, M., Stepanović, M., Stević, M., Lazarević, M., **Miladinović, V.** (2014): Antagonistic effect of different *Bacillus subtilis* strains on *Alternaria solani* isolates in vitro. Book of Abstracts VII Congress on Plant Protection, Zlatibor, pp. 217-218.

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

Име и презиме ментора: Зора Дајић Стевановић

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Radonjic, D., Djordjevic, N. Z., Markovic, B., Markovic, M., Stesevic, D., **Dajic-Stevanovic, Z.P.** (2019): Effect of phenological phase of dry grazing pasture on fatty acid composition of cows' milk. *Chilean journal of agricultural research*, 79 (2), 278-287.
2. Janackovic, P. T., Gavrilovic, M. M., Rancic, D. V., **Dajic-Stevanovic, Z. P.**, Giweli, A. A.M., Marin, P. D. (2019): Comparative anatomical investigation of five *Artemisia* L. (Anthemideae, Asteraceae) species in view of taxonomy Info, *Brazilian journal of botany*, vol. 42 br. 1, str. 135-147.
3. Gavrilovic, M. M., Rancic, D.V., Skundric, T., **Dajic-Stevanovic, Z. P.**, Marin, P. D., Garcia-Jacas, N., Alfonso, S., Janackovic, P. T. (2019): Anatomical Characteristics of *Xeranthemum* L. (Compositae) Species: Taxonomical Insights and Evolution of Life form, *Pakistan journal of botany*, (2019), vol. 51 br. 3, str. 1007-1019
4. Veljkovic, B. P., Djordjevic, N. Z., Dolicanin, Z. C., Licina, B. Z., Topuzovic, M. D., Stankovic M. S., Zlatic, N. M., **Dajic-Stevanovic, Z. P.** (2019): Antioxidant and Anticancer Properties of Leaf and Fruit Extracts of the Wild Raspberry (*Rubus idaeus* L.) *Notulae botanicae horti agrobotanici cluj-napoca*, , vol. 47 br. 2, str. 359-367.
5. **Dajic-Stevanovic, Z. P.**, Bosnjak-Neumueller, J., Pajic-Lijakovic, I. S., Jog, R., Vasiljevic, M. (2018): Essential Oils as Feed Additives Future Perspectives, *Molecules*, vol. 23 br. 7, 1-20.

У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техничко-технолошких, природно-математичких и медицинских наука ментор треба да има **најмање пет радова** са SCI, SSCI, AHCI или SCIE листе, као и Math-Net.Ru листе.

У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији друштвено-хуманистичких наука ментор треба да има **најмање три рада** са релевантне листе научних часописа (Релевантна листа научних часописа обухвата SCI, SSCI, AHCI и SCIE листе, као и ERIH листу, листу часописа које је Министарство за науку класификовало као M24 и додатну листу часописа коју ће, на предлог универзитета, донети Национални савет за високо образовање. Посебно се вреднују и монографије које Министарство науке класификује као M11, M12, M13, M14, M41 и M51.)