

Факултет Пољопривредни

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

32/15-4.1.
(Број захтева)

Веће научних области
биотехничких наука

(Назив већа научне области коме се захтев
упућује)

26.02.2020.
(Датум)

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:

„Генотипска карактеризација и анализа повезаности региона генома и фенотипа ЗП инбред
линија кукуруза“

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ Ратарство и повртарство

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

1. Марко, Ранђел, Младеновић

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

Универзитет у Београду

Пољопривредни факултет, студијски програм
Пољопривреда, модул Ратарство и повртарство

3. Година завршетка
претходног нивоа студија: 2017.

4. Година уписа на докторске студије: 2017/2018.

5. Назив студијског програма
докторских студија: Пољопривредне науке, модул Ратарство и повртарство

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ:

Име и презиме ментора: Славен Продановић

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације

1. Kandić, V., Dodig D., Sećanski M., **Prodanović, S.**, Branković G., Titan P. (2019): Grain yield, agronomic traits, and protein content of two- and six-row barley genotypes under terminal drought conditions. *Chilean journal of agricultural research* 79(4):648-657.
2. Radinović I., Vasiljević I., Zorić M., Branković G., Živanović T., **Prodanović S.** (2018): Variability of Red Clover Genotypes on the Basis of Morphological Markers. *Genetika* 50(3):895-906.
3. Wang W., Wang K., Chen X., **Prodanovic S.**, Li X., Ye X., Yan Y. (2018): Molecular Characterization and Phylogenetic Analysis of One Omega-Gliadin Gene from *Aegilops Speltoides* L. *Genetika* 50(2):503-517.
4. Jocković M., Jocić S., **Prodanović S.**, Cvejić S., Ćirić M., Čanak P., Marjanović-Jeromela A. (2018): Evaluation of Combining Ability and Genetic Components in Sunflower. *Genetika* 50(1):187-198.
5. Djurić N., **Prodanović S.**, Branković G., Djekić V., Cvijanović G., Žilić S., Dragičević V., Zečević V., Dozet G. (2018): Correlation-Regression Analysis of Morphological-Production Traits of Wheat Varieties. *Romanian biotechnological letters* 23(2):13457-13465.

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће Пољопривредног факултета

на седници одржаној 26.02.2020. 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: 32/15-4.1.
Датум: 26.02.2020. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 51. и 52. Правилника о правилима докторских академских студија и члана 44. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће факултета на седници одржаној 26.02.2020. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ тема докторске дисертације коју је поднео **МАРКО МЛАДЕНОВИЋ, мастер** и одобрава израда дисертације под насловом: **«ГЕНОТИПСКА КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И АНАЛИЗА ПОВЕЗАНОСТИ РЕГИОНА ГЕНОМА И ФЕНОТИПА ЗП ИНБРЕД ЛИНИЈА КУКУРУЗА».**

II За ментора се именује др Славен Продановић, редовни професор.

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

Образложење

Наставно-научно веће факултета разматрало је и усвојило Извештај о позитивној оцени научне заснованости теме докторске дисертације коју је поднео Марко Младеновић, мастер.

Наставно-научно веће факултета је приликом доношења одлуке оцењивало да ли је реч о оригиналној идеји и да ли је тема од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

Сходно изнетом одлучено је као у диспозитиву.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Душан Живковић)

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

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Број:

Дана 23. 1. 2020. године

Београд - Земун

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ФАКУЛТЕТА

Предмет: Извештај Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Марка Младеновића, мастера

На основу члана 44. став 1. Правилника о правилима докторских студија Пољопривредног факултета, а на предлог Већа Катедре за генетику, оплемењивање биљака и семенарство и мишљења Наставно-научног већа Института за ратарство и повртарство, Наставно-научно веће Пољопривредног факултета на седници одржаној 25. 12. 2019. године, донело је одлуку бр. 32/13-4.1. да се образује Комисија у саставу др Славен Продановић, редовни професор, Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет (ужа научна област Оплемењивање биљака), др Никола Грчић, научни сарадник, Институт за кукуруз “Земун Поље” (ужа научна област Генетика и оплемењивање), др Томислав Живановић, редовни професор, Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет (ужа научна област Генетика), др Ана Николић, виши научни сарадник, Институт за кукуруз “Земун Поље” (ужа научна област Молекуларна генетика биљака) и др Бојана Бановић Ђери, научни сарадник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство Универзитета у Београду (ужа научна област Молекуларна генетика биљака), за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Марка Младеновића, мастер инжењера пољопривреде, под насловом: “Генотипска карактеризација елитног материјала Института за кукуруз “Земун Поље” применом метода Next Generation Sequencing (NGS) и утврђивање корелација између региона генома и фенотипских особина од значаја”.

Кандидат је дана 8. 1. 2020. године одбранио пријављену тему докторске дисертације. У име Комисије, председник Комисије, др Томислав Живановић, редовни професор, подноси

ИЗВЕШТАЈ

1. Основни подаци о кандидату и дисертацији

1.1. Биографија кандидата

Марко (Ранђел) Младеновић је рођен 8. 5. 1991. године у Београду, где је завршио основну школу и Девету београдску гимназију “Михаило Петровић Алас”. Школске 2010/11. године уписује основне академске студије на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, студијски програм Биљна производња, модул Ратарство и повртарство. Основне академске студије завршава 30. септембра 2016. године са просечном оценом 9,68. Школске 2013/14. године је награђен као један од десет најбољих студената генерације.

Мастер академске студије, студијски програм Пољопривреда, модул Ратарство и повртарство, уписао је школске 2016/17. године на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду. Током мастер студија био је стипендиста Фонда за младе таленте Републике Србије и корисник стипендије “Доситеја”. Мастер рад под називом

“Генетичка варијабилност за принос биомасе кукуруза у условима сувог ратарења и наводњавања” одбранио је 29. септембра 2017. године. Просечна остварена оцена током мастер студија износила је 10,00.

Докторске академске студије уписује школске 2017/18. године на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, студијски програм Пољопривредне науке, модул Ратарство и повртарство. Своје интересовање за усавршавање и научно-истраживачки рад усмерио је на генетику и оплемењивање. До сада је у оквиру докторских академских студија положио 6 испита и остварио 89 ЕСПБ.

Марко Младеновић је током 2017. године као волонтер на Институту за кукуруз “Земун Поље” реализовао експериментални део свог мастер рада. На основу позива Министарства просвете, науке и технолошког развоја талентованим младим истраживачима - студентима докторских академских студија за учешће на научноистраживачким пројектима, од 1. 5. 2018. године ангажован је на Институту за кукуруз “Земун Поље”, за рад на пројекту ТР 31028. На институту активно учествује у реализацији пројектних активности у Групи за селекцију раних хибрида кукуруза и врши истраживања у оквиру своје докторске дисертације. У звање истраживач приправник изабран је априла 2018. године. Марко Младеновић је коаутор једног научног рада на SCI листи и учествовао је на четири научне конференције. У 2019. години био је учесник “XXIV EUCARPIA Maize and Sorghum Conference”. Учествовао је на фестивалу популаризације науке “Ноћ истраживача” 2018. године у Београду, где је представљао истраживања Института за кукуруз “Земун Поље”. Говори енглески и служи се руским језиком.

1.2. Предлог теме докторске дисертације

Наслов дисертације, на предлог Комисије, делимично је измењен, тако да гласи: **“Генотипска карактеризација и анализа повезаности региона генома и фенотипа ЗП инбред линија кукуруза”**. Комисија сматра да тема са овим насловом пружа јасну слику о предмету, програму и научним циљевима дисертације.

2. Предмет и циљ дисертације

2.1. Предмет и програм дисертације

Предмет истраживања ове докторске дисертације је генотипизација и фенотипизација 46 инбред линија кукуруза (*Zea mays* L.) у циљу добијања поузданих и високо информативних података за успостављање веза између генетичких информација и фенотипских својстава. Ове информације ће омогућити бржи и поузданији избор родитељских генотипова са пожељним агрономским особинама за употребу у програмима оплемењивања кукуруза.

Кукуруз је 2017. године у свету заузимао највећи проценат обрадивих површина после пшенице (FAOSTAT, 2019), док је у нашој земљи био на првом месту по површини гајења. Кукуруз, пиринач и пшеница су најважније сировине у људској исхрани и чине 94% потрошње свих житарица (Ranum et al., 2014). Континуирани раст светске популације носи са собом и повећану потребу за храном и енергијом, те је побољшање приноса и квалитета кукуруза један од значајних циљева у пољопривредним истраживањима.

Према наводима Duvick-а (2005), на досадашња повећања приноса кукуруза подједнак утицај су имали како напредак у технологији гајења тако и побољшања на генетичком нивоу. Највећи удео данашње производње кукуруза базира се на гајењу хибрида и искоришћавању феномена хибридне бујности – хетерозиса. Суштина

оплемењивачких програма на кукурузу је стварање хомозиготних инбред линија које представљају родитељске компоненте хибрида. Након стварања инбред линија, одређују се њихове опште комбинационе способности, на основу резултата тест укрштања (*test cross*), како би се одабрали најбољи општи комбинатори за стварање нових, приноснијих хибрида.

Оплемењивање кукуруза на првом месту је усмерено на побољшање приноса зрна и многих особина које су у директној вези са њим. Принос и остале агрономски важне особине су квантитативне природе и налазе се под контролом великог броја гена са малим појединачним ефектима, а њихова фенотипска експресија је под великим утицајем услова спољне средине. Полигенска основа и ниска херитабилност ових особина значајно отежава побољшање њихових вредности путем класичног оплемењивања (Lande et al., 1990).

Последњих деценија, коришћење молекуларно генетичких и одговарајућих статистичких метода омогућило је нови приступ у оплемењивању полигенских особина. Селекција помоћу молекуларних маркера, MAS (*Marker Assisted Selection*), на основу мапирања локуса квантитативних особина, QTL (*Quantitative Trait Loci*), је често коришћен вид селекције, када су у питању квантитативне особине. Овај начин мапирања (*linkage mapping*) има за циљ идентификацију QTL-ова са значајним утицајем на фенотип у циљу њиховог коришћења у оплемењивању. Међутим, тешкоће у мапирању гена са малим појединачним ефектима и њихова велика бројност разлог су ограниченог успеха у побољшању квантитативних особина, а на првом месту приноса (Heffner et al., 2009).

Развој најсавременијих молекуларних аналитичких метода као и одговарајућих информационих технологија за генотипизацију, омогућиле су значајни напредак у оплемењивању полигенских особина (Albrecht et al., 2011; Kukurba и Montgomery, 2015). Данас су методе генотипизације све јефтиније и приступачније, а могућност секвенцирања читавог генома кукуруза и доступност одговарајућих биоинформатичких софтвера за анализу изузетно великог броја генских секвенци омогућавају нови и бољи увид у комплексне квантитативне особине од значаја у оплемењивању кукуруза (Yang et al., 2011).

Одговарајућу генотипизацију за асоцијативно мапирање омогућава метод секвенцирања следеће генерације, NGS (*Next Generation Sequencing*), који се последњих неколико година све интензивније користи. Овај метод заснива се на паралелном секвенцирању милиона малих фрагмената ДНК након чега се биоинформатичким анализама одређују редоследи секвенци свих фрагмената, мапирањем на основу референтног генома или директним поравнањем и придруживањем краћих секвенци у дуже (*de novo assembly*). Да би се обезбедило добијање високо поузданих података, фрагменти ДНК се секвенцирају много пута, захваљујући чему ову методу карактерише велика прецизност читања генома уз малу могућност грешке (Behjati and Tarpey, 2013). Развој NGS метода донео је напредак и у области транскриптомике, омогућавајући анализу различитих класа РНК, секвенцирањем комплементарне ДНК (cDNA) (Wang et al., 2009). Секвенцирање транскриптома има предност у односу на секвенцирање генома јер директно приступа транскрипционо активном делу генома, који у датом тренутку учествује у интеракцији организма са спољном средином, те ће оно бити коришћено у овој докторској дисертацији.

Секвенце добијене секвенцирањем генома или транскриптома путем NGS могу бити искоришћене за идентификацију полиморфизма на нивоу појединачних нуклеотида у читавом геному, помоћу одговарајућих софтвера. Ради се о SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) молекуларним маркерима који данас имају значајну улогу у

развићу молекуларних мапа друге генерације (Nikolić, 2012) и примену у MAS (Koeбner and Summers, 2003). SNP маркери су врло корисни и широко примењени у генетичким студијама модерног доба (Johnson, 2009) и често се користе за генотипизацију у оплемењивању биљака.

Асоцијативно мапирање (*association mapping - linkage disequilibrium mapping*) има за циљ да пронађе регионе генома који су повезани са особинама (фенотипом) и представља алтернативни приступ у мапирању QTL-ова који превазилази ограничења и проблеме са којима се сусреће традиционално мапирање QTL-ова (*linkage mapping*). Ова врста мапирања заснива се на постојању неравнотеже везаности (*linkage disequilibrium*) између маркера и QTL-ова у читавој испитиваној популацији генотипова тј. за њену примену неопходна је блиска везаност маркера и QTL-ова. Из тог разлога, за реализацију овог типа мапирања потребна је велика густина маркера (око 100 маркера по једној cM) која обезбеђује велику вероватноћу да бар један маркер буде у неравнотежи везаности са сваком QTL-ом (Myles et al., 2009). Висока резолуција маркера у геному потребна за асоцијативно мапирање може се обезбедити великим бројем SNP маркера, што их чини вредним маркерима за проучавање квантитативних агрономских особина (Chagné et al., 2007).

За асоцијативно мапирање користи се референтни сет гермплазме који подразумева популацију несродних индивидуа. Овај скуп генотипова служи за добијање генетичких и фенотипских информација на бази којих се унутар тог скупа утврђују асоцијације генетичких маркера и фенотипа (везе маркера и својстава). Употреба варијабилне популације генотипова и коришћење густо распоређених генетичких маркера обезбеђују мапе веће резолуције у односу на затворен систем традиционалног мапирања QTL-ова (Myles et al., 2009). Асоцијативно мапирање има велики потенцијал за дисекцију комплексних квантитативних особина (Yu and Buckler, 2006) и јефтиније је у односу на традиционално “*linkage*” мапирање (Myles et al., 2009).

TASSEL је софтвер (статистички пакет) који омогућава асоцијативно мапирање комплексних својстава (Bradbury et al., 2007). Такође, TASSEL има могућности екстраховања и визуализације података, као што су преглед поравнања секвенци, идентификација SNP-ова и индела (делеција и инсерција) из поравнања, кладограм придруживања и разне функције које дају графичке приказе резултата (Bradbury et al., 2007).

У овој докторској дисертацији акценат је стављен на унапређивање програма оплемењивања који за циљ имају побољшање приноса и осталих важних агрономских особина кукуруза. За ту намену изабран је савремен приступ. Секвенце транскриптома добијене савременом NGS методом одабране су као основ за идентификацију SNP маркера, који ће бити коришћени у овој дисертацији. Спровешће се асоцијативно мапирање 46 елитних генотипова Института за кукуруз “Земун Поље” који ће представљати материјал за генотипизацију и фенотипизацију и референтни сет за успостављање веза између маркера и својстава. Потребне биоинформатичке анализе за асоцијативно мапирање обезбедиће одговарајући софтвер TASSEL.

Сва сазнања која ће бити резултат ове дисертације користиће се у оплемењивачким програмима на Институту за кукуруз “Земун Поље”, са циљем побољшања квалитета, скраћивања времена и снижавања трошкова програма оплемењивања.

2.2. Научни циљ истраживања

Циљеви истраживања ове дисертације су:

а) Утврђивање целокупног сета SNP маркера карактеристичних за сваки од испитиваних генотипова, односно генотипизација. Секвенце транскриптома

омогућавају идентификацију SNP маркера присутних у транскрипционо активним регионима генома који утичу на реализацију фенотипа.

б) Прецизна фенотипска карактеризација (фенотипизација) за квантитативне особине инбред линија кукуруза од значаја за оплемењивање, кроз двогодишње вишелокацијске пољске огледе.

в) Успостављање веза између генетичких маркера и агрономских особина кроз асоцијациону студију фенотипских и генотипских података, помоћу одговарајућег софтвера и процена везаности маркера за одређени фенотип за све испитиване генотипове (асоцијативно мапирање).

г) Идентификација и предлагање потенцијалних молекуларних маркера који би могли бити од користи у оплемењивању кукуруза.

д) Свеопшти циљ је да се на основу добијених информација омогући прецизнији одабир генотипова са пожељним особинама, за коришћење у програмима оплемењивања кукуруза.

3. Основне хипотезе од којих се полази у истраживању

У овом истраживању полази се од следећих претпоставки:

а) Секвенцирање укупног транскриптома из листа кукуруза омогућава идентификовање целокупног сета појединачних нуклеотидних полиморфизама (SNP-ова) карактеристичних за сваки испитивани генотип;

б) Постављање двогодишњих вишелокацијских пољских огледа основ је за добијање података о фенотиповима испитиваних генотипова, односно за њихову ефикасну фенотипску карактеризацију. Фенотипска карактеризација у различитим условима спољне средине може да укаже на специфичну толерантност одређених генотипова на абиотичке стресове;

в) Асоцијативна студија генотипских и фенотипских података је основ за успостављање веза између маркера и својстава;

г) Поставка истраживања, заснована на анализи повезаности региона генома и фенотипа ЗП инбред линија кукуруза, омогућује да се пронађу молекуларни маркери са уочљивом повезаношћу са фенотипом;

д) Добијени резултати су од практичног значаја за унапређење оплемењивања кукуруза на принос и испитиване квантитативне особине.

4. Методе које ће се применити у истраживању

4.1. Биљни материјал

Материјал истраживања ове дисертације представља 46 инбред линија кукуруза које се најчешће користе у актуелним оплемењивачким програмима на Институту за кукуруз “Земун Поље”. Одабрани сет генотипова кукуруза представља референтну популацију за асоцијативно мапирање, односно успостављање веза између маркера и својстава. Одабране линије карактерише различита хетеротична припадност. Од 46 линија, 14 припада *Lancaster Sure Crop* хетеротичној групи, док су остале (32) означене као NonLancaster и припадају опозитним хетеротичким групама (BSSS - *Iowa Stiff Stalk Synthetic*, *Iowa Dent*, итд.). Одабране линије према дужини вегетационог периода припадају различитим групама зрења, од FAO 300 до FAO 700.

4.2. Генетичка карактеризација (генотипизација)

Целокупни сетови SNP маркера карактеристичних за сваку од испитиваних линија биће одређени на основу секвенци укупног транскриптома за свих 46 линија,

добијених секвенцирањем методом *Next Generation Sequencing* на MiSeq апарату, Illumina, на Институту за молекуларну генетику и генетичко инжењерство – ИМГГИ, Београд. Секвенцирање је обављено у припремном периоду, а добијене секвенце представљају основ за идентификацију SNP маркера у овој дисертацији. Узорковање укупног транскриптома извршено је са по три биљке сваке од 46 линија, гајених у контролисаним условима у стакленику (ИМГГИ), из трећег листа у фази четири потпуно развијена листа (V4 фаза). Гајењем свих линија у идентичним условима и екстракцијом укупне РНК из ћелија истог ткива у истој фази развоја, постиже се да су разлике у генској експресији последица једино разлика у генотипу. За припрему cDNA библиотеке коришћен је TruSeq Stranded Total RNA Library Prep kit (Illumina), а за уклањање рибозомалне РНК (rRNA) RiboZero kit (Illumina). За секвенцирање је употребљен MiSeq Reagent kit v2 + стандардна flow cell (Illumina). Секвенцирање је било извршено у оба смера у дужини 151 базних парова.

Секвенцирање транскриптома омогућило је добијање информација о секвенцама транскрипционо активних региона генома који утичу на фенотипско испољавање особина у датим срединским условима. Биоинформатичка анализа ових секвенци указује на полиморфизме (SNP-ове) присутне у транскрипционо активним регионима генома (нпр. деловима генома који носе информацију за синтезу протеина или за синтезу различитих класа регулаторних РНК).

4.3. Фенотипска карактеризација (фенотипизација)

Фенотипска испитивања свих генотипова реализоваће се током две узастопне године у пољским микроогледима. Огледи ће у обе године испитивања бити постављени на локацијама: Бечеј, Панчево и Земун Поље. У Земун Пољу поставиће се два огледа на различитим парцелама Института за кукуруз. За дизајн огледа користиће се потпуно случајан блок систем (*Randomized Complete Block Design* – RCBД), са три понављања сваког генотипа. Сетва ће се обавити на међуредни размак 0,75 m, а дужина редова ће бити 5 m. Површина експерименталне парцеле износиће 7,5 m², а чиниће је два суседна реда дужине 5 m. Број биљака у оквиру сваке експерименталне парцеле биће 52, што одговара густини сетве од 69 000 биљака по хектару. Сетва огледа ће бити извршена савременим сејалицама прилагођеним за микроогледе. На огледима ће бити примењена стандардна технологија производње кукуруза. Да би се постигла комплетна карактеризација појединачних биљака, у оквиру сваке експерименталне парцеле биће одабрано по 10 репрезентативних биљака које ће бити обележене етикетама са бројевима. Сва мерења фенотипских особина ће се вршити на обележеним биљкама.

Фенотипска карактеризација ће обухватити особине од значаја у оплемењивању кукуруза. Одредиће се фенотипске вредности следећих морфолошких особина инбред линија кукуруза: висина биљке до врха метлице, висина биљке до почетка метлице, висина горњег клипа, број листова изнад горњег клипа, број главних грана метлице и ширина листа у чијем пазуху се налази клип. На две локације у Земун Пољу бележиће се интервал између метличења и свилања, ASI (*anthesis silking interval*). Након бербе огледа мериће се принос горњег клипа по биљци и вршиће се анализе компоненти приноса: дужине клипа, броја редова зрна, броја зрна у реду, дубине зрна и масе 1000 зрна.

4.4. Биоинформатичке анализе

Подаци из фенотипизације и секвенце транскриптома свих линија, су основ за биоинформатичке анализе у овој дисертацији. Почетни корак представљаће анализа квалитета секвенци транскриптома, односно предпроцесовање, које ће обухватити

уклањање адаптерских секвенци, контаминаната, лоше секвенцираних региона и секвенци заостале рибозомалне РНК (rRNA). Након тога, помоћу алата за мапирање TopHat (Trapnell et al., 2009) поравнаће се пречишћене секвенце са референтним геномом, односно биће извршено мапирање транскрипата, што представља процесовање секвенци. У наставку истраживања приступиће се анализи квалитета мапирања, а то подразумева процену покривености различитих региона генома, идентификацију спојница између егзона, као и дупликата секвенци. По завршетку мапирања, приступиће се идентификацији свих SNP маркера и индела, употребом више различитих софтвера (на пр. FreeBayes и SnpEff) (Cingolani et al., 2012). За даљу анализу биће одабрани само они SNP и индел маркери које поуздано детектује више софтверских алата. Након идентификације свих SNP маркера карактеристичних за сваки појединачни генотип, биће спроведена асоцијациона студија генетичких и фенотипских података и процена везаности маркера за одређени фенотип, коришћењем софтвера TASSEL (Bradbury et al., 2007).

5. Очекивани резултати и научни допринос

Очекивани резултат ове дисертације је прецизна генотипизација и фенотипизација 46 линија кукуруза и након тога утврђивање веза између генотипских информација (генетичких маркера) и фенотипских особина. Први пут ће се карактерисати, на овај начин, значајан елитни материјал и одредити генетичке дистанце између испитиваних линија, обавити њихова класификација и груписање по сличности. Дисертација ће омогућити детаљнији увид у молекуларну основу најважнијих квантитативних особина инбред линија кукуруза и тиме омогућити да се помоћу маркера врши одабир постојећих и новостворених инбред линија које дају хибриде кукуруза високих приноса.

Истраживачке методе које ће се користити у овој дисертацији су актуелне у светским научним круговима, а конкретан приступ оплемењивању у виду асоцијативног мапирања модеран и користан, па стога резултати ове дисертације имају значајан допринос матичној научној области. Оправданост овог истраживања огледа се у могућности скраћивања, олакшавања и повећања прецизности селекције што би резултовало бржим стварањем супериорних генотипова и превазилажењем основних недостатака класичне селекције. Идентификација свих SNP маркера испитиваних генотипова обезбедиће информације о геному оплемењивачког материјала Института за кукуруз “Земун Поље”, какве до сада нису постојале. На основу резултата ове дисертације биће омогућена и многа друга истраживања корисна за оплемењивање, као што су нпр. квантификација генске експресије и анализа диференцијалне генске експресије, која нису предмет ове докторске дисертације.

Ову дисертацију карактерише мултидисциплинарни приступ, који подразумева интеграцију више научних дисциплина, што представља још један од научних доприноса. Овакав вид приступа у истраживањима на пољу генетике и оплемењивања актуелан је у свету, али и неопходан за добијање примењивих савремених научних сазнања. Истраживање у оквиру ове докторске дисертације ће бити резултат заједничког пројекта Института за кукуруз “Земун Поље” и Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство Универзитета у Београду.

Такође, не мање важан аспект научног доприноса ове дисертације представља и чиненица да се у истраживањима користе најсавременије генетичке и биоинформатичке методе, са којима ће, током истраживања, имати прилике да поред кандидата, овладају и други истраживачи са Института за кукуруз “Земун Поље”. На тај начин, ова дисертација омогућава почетак примене најсавременијих метода у овој

научној установи, а упознавање са руковањем овим методама биће од великог значаја за будућа истраживања.

6. Закључак

На основу анализе поднете пријаве, одржане јавне одбране научне заснованости теме, предложеног програма и очекиваних резултата докторске дисертације кандидата Марка Младеновића, мастер инжењера пољопривреде, Комисија је заузела став да је изабрана тема од значаја за науку и праксу.

Предложени наслов је делимично измењен и као такав у потпуности одговара постављеном циљу и програму истраживања.

Кандидат је током јавне одбране показао широко знање везано за проблематику савремених приступа у оплемењивању кукуруза, као и компетентност и иновативност у спровођењу задатака које предвиђа ова дисертација. Комисија је уверена да ће кандидат у потпуности спровести у дело предложени план и програм и добити поуздане резултате значајне како са научног тако и са практичног становишта.

Предмет истраживања ове дисертације припада научној дисциплини генетика и оплемењивање биљака, док ће сва истраживања бити спроведена на кукурузу. Кандидат је у уводном делу скренуо пажњу на постојећу проблематику оплемењивања кукуруза и дао је осврт на главне методе које ће користити у дисертацији. Одабиром транскриптома за идентификацију SNP маркера, омогућава се увид у полиморфизме присутне искључиво у транскрипционо активним регионима генома који утичу на реализацију фенотипа. Фенотипско испитивање материјала на више локалитета током две године, као и метод испитивања само одабраних репрезентативних биљака, омогућиће добијање поузданих података о фенотипу испитиваних инбред линија. Применом савремених биоинформатичких метода анализираће се повезаност региона генома и фенотипа и успоставити веза између генетичких маркера и својстава. Методе које ће бити коришћене у овој дисертацији су модерне и омогућиће у потпуности реализацију планираног циља истраживања.

Основни циљ ових истраживања је да се кроз асоцијативну студију генотипских и фенотипских података стекне увид у повезаност маркера и фенотипа код најчешће коришћених елитних линија у актуелним програмима селекције на Институту за кукуруз “Земун Поље”. Тиме се омогућује идентификација високо информативних и материјал специфичних молекуларних маркера повезаних са фенотипом, који ће унапредити оплемењивачке програме и омогућити стварање нових хибрида кукуруза високог приноса.

Ова дисертација се заснива на коришћењу најсавременијих молекуларних и информационих метода истраживања и прати светске научне токове. У овом истраживању ће бити коришћен мултидисциплинарни приступ који подразумева интеграцију неколико научних дисциплина. Предложена тема, по свом садржају и обиму, представља оригинални допринос науци.

На основу свега изнетог, Комисија позитивно оцењује поднету пријаву и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да Марку Младеновићу, мастер инжењеру пољопривреде, одобри израду докторске дисертације под насловом, **“Генотипска карактеризација и анализа повезаности региона генома и фенотипа ЗП инбред линија кукуруза”**.

Комисија предлаже за ментора кандидата при реализацији ове докторске дисертације др Славена Продановића, редовног професора Пољопривредног факултета Универзитета у Београду.

7. Име и референце предложеног ментора

Име и презиме ментора: **др Славен Продановић**

Звање: **редовни професор**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

Kandić, V., Dodig D., Sećanski M., **Prodanović, S.**, Branković G., Titan P. (2019): Grain yield, agronomic traits, and protein content of two- and six-row barley genotypes under terminal drought conditions. Chilean journal of agricultural research 79(4):648-657.

Radinović I., Vasiljević I., Zorić M., Branković G., Živanović T., **Prodanović S.** (2018): Variability of Red Clover Genotypes on the Basis of Morphological Markers. Genetika 50(3):895-906.

Wang W., Wang K., Chen X., **Prodanovic S.**, Li X., Ye X., Yan Y. (2018): Molecular Characterization and Phylogenetic Analysis of One Omega-Gliadin Gene from Aegilops Speltoides L. Genetika 50(2):503-517.

Jocković M., Jocić S., **Prodanović S.**, Cvejić S., Ćirić M., Čanak P., Marjanović-Jeromela A. (2018): Evaluation of Combining Ability and Genetic Components in Sunflower. Genetika 50(1):187-198.

Djurić N., **Prodanović S.**, Branković G., Djekić V., Cvijanović G., Žilić S., Dragičević V., Zečević V., Dozet G. (2018): Correlation-Regression Analysis of Morphological-Production Traits of Wheat Varieties. Romanian biotechnological letters 23(2):13457-13465.

Београд – Земун

Дана 23. 1. 2020. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

др Томислав Живановић, редовни професор, председник
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
(ужа научна област: Генетика)

др Славен Продановић, редовни професор, члан
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
(ужа научна област: Оплећењивање биљака)

др Никола Грчић, научни сарадник, члан
Институт за кукуруз “Земун Поље”
(ужа научна област: Генетика и оплећењивање)

др Ана Николић, виши научни сарадник, члан
Институт за кукуруз “Земун Поље”
(ужа научна област: Молекуларна генетика биљака)

др Бојана Бановић Ђери, научни сарадник, члан
Институт за молекуларну генетику
и генетичко инжењерство Универзитета у Београду
(ужа научна област: Молекуларна генетика биљака)

Прилог 1. Списак саопштених и објављених научних и стручних радова кандидата Марка Младеновића

Рад у међународном часопису (M23)

Grčić, N., Delić, N., Stevanović, M., Pavlov, J., Crevar, M., **Mladenović, M.**, Nišavić, N. (2018): Genetic distance of maize inbred lines based on SSR markers for prediction of heterosis and combining ability. *Genetika* 50(2):359-368.

Саопштење са међународног скупа штампано у целини (M33)

Grčić, N., Stevanović, M., Pavlov, J., Obradović, A., Čamdžija, Z., **Mladenović, M.** (2018): Influence of the reciprocal crosses on grain yield and morphological traits in single-cross maize hybrids. In: Kovačević, D. (Ed.), *Book of Proceedings of the IX International Scientific Agriculture Symposium „Agrosym 2018“*. Jahorina, Bosnia and Herzegovina, pp. 708-712.

Grčić, N., Stepanić, A., **Mladenović, M.**, Stevanović, M., Pavlov, J., Čamžija, Z. (2019): General Combining Abilities Of Elite Maize Inbred Lines For Yield And Important Traits. In: Kovačević, D. (Ed.), *Book Of Proceedings of the X International Scientific Agriculture Symposium “Agrosym 2019”*. Jahorina, Bosnia and Herzegovina, pp. 604-608.

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M34)

Mladenović, M., Grčić, N., Božinović, S., Vančetović, J., Prodanović, S. (2019): Evaluation of maize inbred lines for drought tolerance at vegetative stage. XXIVth EUCARPIA Maize and Sorghum Conference. Freising, Germany, Poster No. 26.

Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу (M64)

Grčić, N., Čamdžija, Z., Pavlov, J., **Mladenović, M.**, Božinović, S., Sečanski, M. (2018): Uticaj recipročnih ukrštanja na komponente prinosa i kvalitet zrna dvolinijskih hibrida kukuruza. U: Anđelković, V., Srdić, J. (Urednici), *Knjiga apstrakata VI Simpozijuma Sekcije za oplemenjivanje organizama Društva Genetičara Srbije i IX Simpozijuma Društva selekcionera i semenara Republike Srbije*. Vrnjačka Banja, Srbija, str. 33

Прилог 2. Spisak literature koja ће се користити

Albrecht, T., Auinger, H. J., Wimmer, V., Ogutu, J. O., Knaak, C., Ouzunova, M., Piepho, H.P., Schön, C. C. (2014): Genome-based prediction of maize hybrid performance across genetic groups, testers, locations, and years. *Theoretical and applied genetics* 127(6):1375-1386.

Behjati, S., Tarpey, P. S. (2013): What is next generation sequencing? *Archives of Disease in Childhood-Education and Practice* 98(6):236-238.

Bernardo, R., Yu, J. (2007): Prospects for genomewide selection for quantitative traits in maize. *Crop Science* 47(3):1082-1090.

Bradbury, P. J., Zhang, Z., Kroon, D. E., Casstevens, T. M., Ramdoss, Y., Buckler, E. S. (2007): TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23(19):2633-2635.

Chagné, D., Batley, J., Edwards, D., Forster, J. W. (2007): Single nucleotide polymorphism genotyping in plants. In: Oraguzie, N. C., Gardiner, S. E., Rikkerink, E. H., Silva, H. N. (Eds.), *Association mapping in plants*. Springer, New York, pp. 77-94.

Cingolani, P., Platts, A., Wang le, L., Coon, M., Nguyen, T., Wang, L., Land, S.J., Lu X, Ruden, D.M., Li, X. (2012): A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3. *Fly* 6(2): 80-92.

Duvick, D. N. (2005): The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.). *Advances in agronomy*, 86:83-145.

FAO (2019): Faostat. Food and Agriculture Organization of the United Nations: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

Heffner, E.L., Sorrells, M.E., Jannink, J.L. (2009): Genomic selection for crop improvement. *Crop Science* 49(1):1–12.

Johnson, A. D. (2009): Single-nucleotide polymorphism bioinformatics: a comprehensive review of resources. *Circulation: Cardiovascular Genetics* 2(5):530-536.

Koebner R.M.D., Summers, R.W. (2003): 21st century wheat breeding: Plot selection or plate detection?. *Trends in Biotechnology* 21(2):59–63.

Kukurba, K. R., Montgomery, S. B. (2015): RNA sequencing and analysis. *Cold Spring Harbor Protocols* 2015(11):951-969.

Lande, R., Thompson, R. (1990): Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124(3):743–756.

Massman, J. M., Gordillo, A., Lorenzana, R. E., Bernardo, R. (2013): Genomewide predictions from maize single-cross data. *Theoretical and applied genetics* 126(1):13-22.

Mayor, P. J., Bernardo, R. (2009): Genomewide selection and marker-assisted recurrent selection in doubled haploid versus F₂ populations. *Crop Science* 49(5):1719-1725.

Myles, S., Peiffer, J., Brown, P. J., Ersoz, E. S., Zhang, Z., Costich, D. E., Buckler, E. S. (2009): Association mapping: critical considerations shift from genotyping to experimental design. *The Plant Cell* 21(8):2194-2202.

Nikolić, A. S. (2012): Identifikacija genskih lokusa (QTL) uključenih u kontrolu odgovora kukuruza (*Zea mays* L.) na stres suše. Doktorska disertacija. Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Republika Srbija.

Ranum, P., Peña-Rosas, J.P., Garcia-Casal, M.N. (2014): Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1312(1):105-112.

Trapnell, C., Pachter, L., Salzberg, S.L. (2009): TopHat: discovering splice junctions with RNA-Seq. *Bioinformatics* 25(9), 1105–1111.

Wang, Z., Gerstein, M., Snyder, M. (2009): RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature reviews genetics* 10(1):57-63.

Yang, X., Gao, S., Xu, S., Zhang, Z., Prasanna, B. M., Li, L., Li, J., Yan, J. (2011): Characterization of a global germplasm collection and its potential utilization for analysis of complex quantitative traits in maize. *Molecular Breeding* 28(4):511-526.

Yu, J., Buckler, E. S. (2006): Genetic association mapping and genome organization of maize. *Current opinion in biotechnology* 17(2):155-160.