

Пољопривредни факултет

32/17-7.3.
(Број захтева)
26.04.2023.
(Датум)

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

Веће научних области
биотехничких наука
(Назив већа научне области коме се захтев упућује)

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на одлуке о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације и о именовању комисије за одбрану

Молимо да, сходно члану 48 ст. 5 тач. 4) Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", бр. 201/2018, 207/2019, 213/2020, 214/2020, 217/2020, 230/21, 232/22, 233/22 и 236/22), дате сагласност на одлуку о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације:

КАНДИДАТ Сања, Зоран, Перић
(име, име једног од родитеља и презиме)

студент докторских студија на студијском програму Пољопривредне науке

уписана на докторске студије 2016/2017 године,

пријавила је тему докторске дисертације дана 17.06.2021. године, под називом: „Утицај фенотипске и генетичке удаљености инбред линија на испољавање хетерозиса код диалелних хибрида кукуруза“

из научне области: Ратарство и повртарство.

Универзитет је дана 14.12.2021. године својим актом под бр. 02-08 Број: 61206-4859/2-21 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: „Утицај фенотипске и генетичке удаљености инбред линија на испољавање хетерозиса код диалелних хибрида кукуруза“

Име и презиме првог ментора др Славен Продановић

Име и презиме другог ментора др Милан Стевановић

Комисија за оцену докторске дисертације именована је на седници одржаној 22.02.2023. године одлуком факултета под бр. 32/15-7, у саставу:

Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1. др Данијела Ристић	виши научни сарадник	Генетика и оплемењивање биљака	Институт за кукуруз „Земун Поље”
2. др Томислав Живановић	редовни професор	Генетика	

Универзитет у Београду –
Пољопривредни факултет;

3. др Јасна Савић лековито биље	редовни професор	Ратарство, повртарство, цвећарство, крмно и Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет;
------------------------------------	------------------	--

Датум стављања извештаја Комисије и докторске дисертације на увид јавности 01.03.2023. год.

Наставно-научно веће факултета усвојило је извештај Комисије за оцену докторске дисертације на седници одржаној дана 26.04.2023. године.

Комисија за одбрану докторске дисертације именована је на седници одржаној 26.04.2023. године одлуком факултета под бр. 32/17-7.4. у саставу:

Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1. др Данијела Ристић	виши научни сарадник	Генетика и оплемењивање биљака	Институт за кукуруз „Земун Поље” ;
2. др Томислав Живановић	редовни професор	Генетика	Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет;
3. др Јасна Савић лековито биље	редовни професор	Ратарство, повртарство, цвећарство, крмно и	Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет;

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА
Проф. др Душан Живковић

Прилози:

- 1. Одлука Наставно-научног већа о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације и одлука о именовању Комисије за одбрану докторске дисертације**
- 2. Извештај Комисије о оцени докторске дисертације**
- 3. Примедбе на извештај Комисије о оцени докторске дисертације (уколико их је било) и мишљење Комисије о примедбама**

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 32/17-7.3.
Датум: 26.04.2023. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 44. Статута Пољопривредног факултета (2018. година) и члана 62. Правилника о правилима докторских академских студија, Наставно - научно веће факултета на седници одржаној 26.04.2023. године, донело је

ОДЛУКУ

I УСВАЈА СЕ Извештај Комисије о позитивној оцени докторске дисертације коју је поднела **САЊА ПЕРИЋ, мастер** и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **"УТИЦАЈ ФЕНОТИПСКЕ И ГЕНЕТИЧКЕ УДАЉЕНОСТИ ИНБРЕД ЛИНИЈА НА ИСПОЉАВАЊЕ ХЕТЕРОЗИСА КОД ДИАЛЕЛНИХ ХИБРИДА КУКУРУЗА"**.

II Универзитет је дана 14.12.2021. године, актом 02-08 број: 61206-4859/2-21, дао сагласност на одлуку Наставно - научног већа факултета о прихватању теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у научном часопису који га квалификује за одбрану докторске дисертације:

Perić, S., Stevanović, M., Prodanović, S., Mladenović Drinić, S., Grčić, N., Kandić, V., Pavlov, J. (2021): Genetic distance of maize inbreds for prediction of heterosis and combining ability, *Genetika*, 53 (3): 1219-1228. DOI 10.2298/GENSR2103219P

Образложење

Наставно-научно веће факултета разматрало је и усвојило Извештај Комисије о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднела Сања Перић, мастер.

Наставно-научно веће факултета је приликом доношења одлуке оцењивало да ли је завршена докторска дисертација у складу са одобреном темом и да ли наводи садржани у реферату потврђују да су се стекли услови за одбрану докторске дисертације.

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: 32/17-7.4.
Датум: 26.04.2023. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 44. Статута Пољопривредног факултета (2018. година) и члана 63. Правилника о правилима докторских академских студија, Наставно - научно веће факултета на седници одржаној 26.04.2023. године, донело је

О Д Л У К У

I У Комисију за одбрану докторске дисертације коју је поднела **САЊА ПЕРИЋ, мастер**, под насловом: **"УТИЦАЈ ФЕНОТИПСКЕ И ГЕНЕТИЧКЕ УДАЉЕНОСТИ ИНБРЕД ЛИНИЈА НА ИСПОЉАВАЊЕ ХЕТЕРОЗИСА КОД ДИАЛЕЛНИХ ХИБРИДА КУКУРУЗА"**, именују се:

1. др Данијела Ристић, виши научни сарадник
Института за кукуруз „Земун Поље“,
2. др Томислав Живановић, редовни професор
Универзитета у Београду – Пољопривредног факултета и
3. др Јасна Савић, редовни професор
Универзитета у Београду – Пољопривредног факултета.

II На ову одлуку, о именовању Комисије за одбрану докторске дисертације, сагласност даје одговарајуће Веће научних области Универзитета у Београду.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Душан Живковић)

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

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Датум: 23. 2. 2023. године
Београд

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ФАКУЛТЕТА

Предмет: Извештај Комисије за оцену урађене докторске дисертације Сање Перић, мастер инжењера пољопривреде

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду број 32/15-7 од 22. 2. 2023. године, именована је Комисију у саставу: др Данијела Ристић, виши научни сарадник Института за кукуруз „Земун Поље”, др Томислав Живановић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду и др Јасна Савић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, за оцену докторске дисертације кандидата **Сање Перић, маг. инж. пољ.**, под насловом: **"Утицај фенотипске и генетичке удаљености инбрид линија на испољавање хетерозиса код диалелних хибрида кукуруза"**.

Након прегледа и анализе завршене докторске дисертације, председник Комисије др Томислав Живановић (одлука број 12/45 од 23.02.2023. год.), подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Основни подаци о кандидату и дисертацији

Основни подаци о кандидату - Сања Перић је рођена 4. 10. 1991. године у Београду. Завршила је општи смер Гимназије у Старој Пазови. Основне академске студије на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду уписала је 2010. године на студијском програму Биљна производња, модул Ратарство и повртарство, а завршила је 2015. године са просечном оценом 9,32. Завршни рад је радила на Институту за кукуруз Земун Поље у лабораторији за испитивање семена. Назив теме је гласио: „Морфолошке особине, продуктивност и квалитет семена ЗП хибрида и линија кукуруза”. Мастер академске студије је завршила 2016. године на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду на студијском програм Биљна производња, модул Ратарство и повртарство са просечном оценом 10,00. Мастер рад је радила на Институту за кукуруз Земун Поље на одсеку Селекција. Назив теме је гласио: „Квалитет семена простих и реципрочних ЗП СЦ хибрида кукуруза и њихових родитељских компоненти”. Уписала је докторске академске студије на Универзитету у Београду Пољопривредном факултету, студијски програм Пољопривредне науке, модул Ратарство и повртарство, школске 2016/17. године. Као стипендиста Министарства за науку и технолошки

развој била је ангажована на пројекту ТР 31005 под називом „Савремени биотехнолошки приступ решавања проблема суше у пољопривреди Србије”. Ангажована је на Институту за кукуруз Земун Поље у Одељењу за селекцију. Служи се енглеским и руским језиком.

Основни подаци о дисертацији - Докторска дисертација маг. инж. пољ. Сање Перић, написана је на укупно 107 страница текста у оквиру којих је 39 табела, 12 графика и 5 слика и оригиналних фотографија. У докторској дисертацији цитирано је 213 извора литературе.

Докторска дисертација испред основног текста садржи: Насловну страну на српском и енглеском и језику, Информације о менторима и члановима комисије, Захвалницу, Сажетак са кључним речима на српском и енглеском језику и Садржај. Докторска дисертација подељена је на 8 основних поглавља и то: I – Увод (стр. 1-2), II – Циљ истраживања (стр. 3), III – Преглед литературе (стр. 4-18), IV – Радна хипотеза (стр. 19), V – Материјал и методе (стр. 20-34), VI – Резултати истраживања и дискусија (стр. 35-89), VII – Закључак (90-91) и VIII – Литература (92-107). Након текста докторске дисертације приказана је Биографија аутора и приложене обавезне изјаве (Изјава о ауторству, Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјава о коришћењу).

2. Предмет и циљ дисертације

Предмет ове дисертације је генетичка анализа вредности хетерозиса који се испољава коришћењем гермплазме кукуруза у процесу оплемењивања. Основни циљ истраживања у овој дисертацији је да се одреди и упореди утицај фенотипске и генетичке удаљености инбред линија кукуруза на испољавање хетерозиса код хибрида добијених методом диалела. Истраживања омогућују да се прошире теоријска сазнања о испољавању хетерозиса код кукуруза, али имају и практичан циљ да се унапреди процес оплемењивања кукуруза и повећа продуктивност хибрида у пољопривредној производњи. За реализацију наведеног циља креирана је серија диалелних F_1 хибрида кукуруза укрштањем родитељских инбред линија различитог порекла. Први задатак је да се одреде средње вредности и варијабилност приноса и других квантитативних особина, као и да се утврди значајност разлика између добијених диалелних хибрида и њихових родитеља. Потом је потребно идентификовати инбред линије са најбољим општим и посебним комбинационим способностима за принос зрна и применити биометријске анализе података. Такође је постављено за циљ да се одреди фенотипска дивергенција и сличност родитеља, као и да се инбред линије доделе одговарајућим хетеротичним групама применом хијерархијске кластер анализе. На основу експресивности особина, комбинационих способности и припадности хетеротичним групама родитељских линија објединиће се показатељи њихове фенотипске удаљености. За очекивати је да што су инбред линије фенотипски удаљеније, добиће се виши приноси и испољити већи хетерозис код потомства F_1 генерације.

У овим истраживањима намера је да се за процену удаљености инбред линија такође користе молекуларни маркери. У том смислу, одабрана су два типа маркера (SSR и SNP). Постављено је за циљ да се кроз лабораторијска испитивања одреди ДНК полиморфизам родитеља како би се израчунале њихове генетичке дистанце (ГД) и одредиле групе генетички блиских и дивергентних линија. Тиме се ствара основа да се упореди ефикасност избора родитеља за укрштања на основу њихове фенотипске удаљености са избором родитеља на основу њихове генетичке удаљености. У том смислу, постављено је за циљ да се израчунају корелације између приноса зрна диалелних хибрида, хетерозиса у односу на бољег родитеља (HBR), комбинационих способности родитеља и генетичке дистанце родитеља. Један од

посебних циљева рада је да се процени поузданост два типа молекуларних маркера у погледу предвиђања вредности хетерозиса.

3. Основне хипотезе од којих се полазило у истраживању

У овом поглављу наведене су основне претпоставке на којима се заснивају истраживања о приносу и хетерозису, оплемењивачкој вредности и молекуларној карактеризацији инбред линија кукуруза. Претпоставка је да се инбред линије које немају исту наследну основу међусобно разликују по приносу *per se* и самим тим се разликује принос хибрида који настају њиховим укрштањем. Очекује се да ће принос једноструких хибрида бити знатно виши у поређењу са приносом родитељских компоненти, као и да ће постојати значајне разлике у степену испољавања хетерозиса код диалелних SC хибрида. Једна од полазних хипотеза је да ће хетерозис код SC хибрида из укрштања инбред линија из различитих хетеротичних група бити већи него из укрштања инбред линија из истих хетеротичних група. Такође, за очекивати је да ће интензитет испољавања хетерозиса за принос зрна бити највећи код F_1 комбинација генетички најудаљенијих родитеља. Квантитативне особине које се користе за фенотипизацију кукуруза могу омогућити да се одреде групе међусобно сличних и различитих инбред линија, применом хијерархијске кластер анализе. Претпоставка је да ће се појавити и одређена одступања у односу између генетичке удаљености инбред линија и хетерозиса за принос зрна код диалелних F_1 хибрида, услед појаве да се поједине инбред линије опште или посебно (специфично) добро комбинују. Развијене су одговарајуће биометријске методе којима се може утврдити да ли постоје значајне разлике у вредностима општих и посебних комбинационих способности код испитиваних инбред линија. Очекује се да парови инбред линија који имају мање генетичке дистанце истовремено имају и ниже вредности посебних комбинационих способности. Диалелно укрштање је поуздан начин да се одреде вредности бројних генетичких параметара за родитеље и њихове хибриде. Очекује се да ће диалелна анализа у овој дисертацији указати на комбинационе способности инбред линија и учешће адитивне и неадитивне компоненте генотипа у укупном фенотипском варирању. Познато је да је неадитивна генетичка варијанса одређених особина погоднија за утврђивање најроднијих хибридних комбинација. Очекује се да се помоћу коефицијента корелације може утврдити сличност у варирању између приноса и осталих квантитативних особина и доћи до закључка које особине највише утичу на принос. Молекуларни маркери (SSR и SNP) се успешно користе за генетичку карактеризацију инбред линија. Очекује се да постоје значајне разлике у генетичкој удаљености између инбред линија које ће на основу тога произвести различит степен хетерозиса код хибрида. Молекуларна карактеризација инбред линија омогућава да се изврши њихово разврставање у хетеротичне групе. Тестираће се нулта хипотеза да не постоје разлике у добијеним резултатима при примени SSR и SNP молекуларних маркера, што ће бити корисно за међусобну проверу поузданости ове две технике. Очекује се да ће обе технике молекуларних маркера показати сличне резултате.

4. Кратак опис садржаја дисертације

I – Увод. У овом поглављу кандидаткиња описује значај хибридне бујности или хетерозиса као једне од кључних фактора за добијање високих приноса кукуруза. Она истиче да се данас највећи приноси постижу гајењем дволинијских хибрида. Испољавање хетерозиса за принос зрна у великој мери зависи од избора родитељских парова за укрштање. Испитивање карактеристика различитих инбред линија и механизма наслеђивања особина кукуруза од значаја је за унапређење селекционих програма. Од посебног интереса за оплемењиваче је утврдити фенотипску дивергенцију инбред линија различитог порекла и анализирати њихове

комбинационе способности. На основу општих комбинационих способности (ОКС) и посебних комбинационих способности (ПКС) идентификују се родитељи који имају одговарајуће доминантне и адитивне гене за пожељне особине. Још један начин за идентификацију добрих родитеља парова представља примена биотехнолошких метода и техника.

Молекуларним маркерима се даје извесна предност над класичним фенотипским анализама, јер се помоћу њих добија бржи и прецизнији увид у генетичку структуру испитиваног биљног материјала. Осим тога, на молекуларне маркере спољна средина нема утицај. Молекуларни маркери омогућавају да се процени генетичка удаљеност родитеља, при чему је добијени резултат о дивергенцији инбред линија неопходно проверити класичним методама оплемењивања, кроз пољске огледе са њиховим хибридным потомством.

II – Циљ истраживања – Циљеви истраживања приказани су у тачки 2. овог Извештаја.

III – Преглед литературе. Кандидаткиња је у овом поглављу приказала теоријске основе и резултате до којих су дошли други аутори у истраживањима која су у уској вези са темом ове дисертације. Преглед литературе изложен је кроз три потпоглавља:

3.1. Кукуруз - порекло, фенотип

3.2. Конвенционално оплемењивање кукуруза и

3.3. Примена генетичких молекуларних маркера у оплемењивању кукуруза.

У потпоглављу 3.1. кандидаткиња приказује преглед литературе која се односи на морфолошке особине кукуруза, порекло врсте, таксономску припадност, пут интродукције кукуруза на наше просторе, значај и употребну вредност кукуруза. Такође наводи податке о укупним површинама и производњи кукуруза у свету и у Србији.

У потпоглављу 3.2. приказани су резултати радова који описују пут промене кукуруза из примитивног у гајени и факторе који су на то утицали. Посебан акценат стављен је на развој кукуруза од слободноопрашујућих сорти до савремених инбред линија и хибрида. Све до друге половине 19. века била је присутна веома велика генетичка разноврсност кукуруза на простору Балкана. Одвијало се слободно опрашивање и адаптација на агроеколошке услове. У производњи су се налазиле слободноопрашујуће сорте код којих је принос био веома низак. Селекција заснована на принципима генетике започиње почетком 20. века. Током 1930-их и 1940-их дошло је до експанзије метода оплемењивања, укључујући примену хетерозиса. Употреба међусортних хибрида трајала је од 1947. до 1955. године (Trifunović, 1986). Услед жеље за повећањем приноса истраживачи започињу развој инбред линија које се добијају кроз више генерација самооплодње и врше њихова укрштања како би добили двоструке хибриде (DC). Једноструки хибриди (SC) настају током 1960-их година и они се показују као роднији од двоструких за око 20% (Duvick, 1999). Осим већег генетичког потенцијала родности, SC хибриди имају и већу фенотипску уједначеност. Фаворизовањем само одређених инбред линија у производњи SC хибрида постепено долази до сужавања генетичке основе. У том контексту, бројни аутори указују на значај обима колекције кукуруза у банкама гена. За стварање савремених инбред линија најчешће се користе F_2 популације. Модерни програми оплемењивања заснивају се на концепту „инбридинг-хибридизација“ и селекција „клип на ред“, уз тестирање комбинационих способности. Веома је битно пронаћи одговарајући тестер који ће омогућити идентификацију добро комбинујућих генотипова. Запажено је да индивидуална селекција на принос зрна доводи до смањене стабилности хибрида кукуруза, док оплемењивање на стабилност обично резултује нижим приносом зрна (Sečanski et al., 2010). Како хибриди не преносе хетерозис на своје потомство, сваке године се инбред линије морају изнова укрштати. За испитивање хетерозиса неопходно је успостављање хетеротичних образаца (модела) на основу којих ће се вршити укрштања између генотипова (Betran et al., 2003).

У потпоглављу 3.3. истакнут је значај истраживања и примене молекуларних маркера у оплемењивању кукуруза. Молекуларни маркери детектују полиморфизам у ДНК секвенцама на

специфичним локацијама на геному које се преносе стандардним законима наслеђивања са једне генерације на другу (Matsuoka et al., 2002, Prodanović et al., 2017). Молекуларни маркери омогућују да се одреди генетичка дистанца између инбред линија кукуруза. Већа генетичка дистанца указује на већу дивергентност родитеља, што је значајно за добијање високих вредности приноса зрна и хетерозиса код потомства. Мала генетичка дистанца између инбред линије указује да оне припадају истој хетеротичној групи. Идентификовани молекуларни маркери код генотипова не варирају при променама услова спољне средине (Pinto et al., 2003).

IV – Радна хипотеза – Радна хипотеза је приказана у тачки 2. овог Извештаја.

V – Материјал и методе. У почетку овог поглавља описан је биљни материјал који је коришћен у истраживању. Инбред линије су укрштене по методу диалела без реципрочних укрштања и тим путем је добијен 21 хибрид F_1 генерације. Оглед је постављен током 2017. и 2018. године по методу потпуно случајног блок дизајна. Инбред линије и F_1 хибриди су сејани у три понављања, на три локације (Земун Поље, Нови Сад и Школско Добро - Земун). Величина елементарне парцеле износила је $7,5 \text{ m}^2$. Сваки генотип је сејан у два реда дужине 5 m, са међуредним размаком 0,75 m. Сетва је у обе године обављена машински, док је берба била ручна. Пошто је сетва обављена гушће од предвиђене, у фази шест листова је извршено проређивање биљака на коначан број. Након проређивања, остало је 50 биљака по генотипу, што одговара густини од 66667 биљака по хектару.

Кандидаткиња је у огледима пратила следеће квантитативне особине: принос зрна са 14% влаге, садржај влаге у зрну у моменту бербе, висина биљке, висина до горњег клипа, укупан број листова, број листова изнад горњег клипа, дужина клипа, број редова зрна на клипу, број зрна у реду на клипу, дубина зрна, маса 1000 зрна и интервал између метличења и свилања (ASI, *Anthesis silking interval*). Кандидаткиња такође описује агрометеоролошке услове на огледним локалитетима током периода истраживања. Мерења морфолошких особина (висина биљке, висина горњег клипа, укупан број листова и број листова изнад клипа) обављена су након фазе цветања кукуруза, на узорку од 10 биљака по генотипу и по сваком понављању. За ASI вредности генотипова узети су датуми када је 50% биљака свилало, односно метличило. При берби, измерена је маса клипа, маса окласка и % влаге у зрну на узорку од 5 клипова. На основу тих података израчуната је % окласка и принос зрна у t/ha (са 14% влаге). Садржај влаге у зрну у моменту бербе мерен је на влагомеру *Dickey John GAC 2100 Agri Moisture Tester*. Компоненте приноса (дужина клипа, број редова зрна на клипу, број зрна у реду, дубина зрна) мерене су на 10 случајно одабраних клипова сваког генотипа.

Добијени подаци су статистички обрађени применом анализе варијансе (ANOVA) потпуно случајног блок дизајна за факторе: године, локације и генотипови. За анализу варијансе је коришћен статистички пакет MSTATC (Development Team, 1989). Тест најмање значајне разлике (LSD) употребљен је за поређење значајности разлика средина у приносу зрна и осталим агрономским особинама између испитиваних генотипова кукуруза.

Хетерозис за испитиване особине је одређиван у односу на бољег родитеља. Комбинационе способности се деле на опште и посебне. Општа комбинациона способност (ОКС) је просечна вредност линије у хибридној комбинацији, а посебна комбинациона способност (ПКС) је одступање укрштања од просечних вредности укључених линија. ОКС се односи на адитивну генетичку варијансу, а ПКС на неадитивну генетичку варијансу, тј. доминацију и епистазу. Анализа комбинационих способности је урађена за сет диалелних хибрида по Griffing-у (1956), метод 2, математички модел 1. Однос општих и посебних комбинационих способности (ОКС/ПКС) указује на преовлађујућу улогу адитивне или неадитивне варијансе. Израчунати су прости корелациони коефицијенти (r) и приказани у корелационој метрици. Корелациона анализа је примењена јер повезује ефекте усмереног оплемењивања на једну особину са другим особинама које су у статистички значајној корелацији са њом.

За анализу генетичке дистанце кандидаткиња је примењивала технику SSR и SNP молекуларних маркера. SSR маркери се називају и микросателити, а они представљају кратке тандемске поновке од 2 до 10 нуклеотида, који су широко распрострањени у геному кукуруза. SNP маркери се још називају тачкасте мутације и представљају разлику у једном нуклеотиду између две секвенце ДНК. За SSR маркере екстракција ДНК је извршена помоћу модификованог Dorokhov & Klocke (1997) протокола. Направљен је групни узорак од по пет свежих листова са различитих биљака од сваког генотипа. Концентрација и квалитет ДНК одређивани су на спектрофотометру *BioSpectrometer® kinetic Eppendorf*. За SSR анализу употребљено је 34 комерцијалних прајмера. Амплификација ДНК извршена је ланчаном реакцијом полимеразе (PCR, *Polymerase Chain Reaction*). Након PCR реакције ДНК фрагменти су раздвојени на полиакриламидним геловима. Електрофореза је вршена на апарату *Mini Protean Tetra-Cell BioRad*.

Анализа резултата бинарних података обухватила је процену генетичке сличности (GS) испитиваних инбред линија кукуруза на основу коефицијента једноставног подударања (simple matching). Матрица генетичких сличности послужила је за кластер анализу, применом UPGMA методе (Unweighted Pair-Group Mean Arithmetic method) у SAHN програму (sequential, agglomerative, hierarchical, and nested clustering method; Sneath & Sokal, 1973), помоћу NTSYS-pc2.1 пакета (Rohlf, 2000). Код SNP маркера у истраживању је коришћена ДНК изолована из ћелија листа испитиваних инбред линија кукуруза. У ту сврху, за сваку инбред линију је наклијавано десет зрна, а клијанци су узгајани до фазе 3-4 листа, након чега су листови самлевени у узорак из којег се вршила екстракција ДНК. У том циљу коришћен је *GeneJET Plant Genomic DNA Purification Kit* намењен за брзу и висококвалитетну екстракцију и пурификацију геномске ДНК из биљних ткива. Генотипизација испитиваних инбред линија кукуруза је извршена применом генског чипа *Maize 25K XT array* који садржи 23908 SNPs равномерно распоређених по целом геному кукуруза. Укупно 18889 високо информативних и квалитетних SNP маркера коришћено је у биоинформатичкој анализи, применом програма STRUCTURE 2.3.4. (Pritchard et al., 2000).

Генетичка дистанца између инбред линија и припадајући дендрограм добијени су анализом у програму TASSEL (Bradbury et al., 2007). Међузависност резултата добијених применом SSR и SNP молекуларних маркера са вредностима посебних комбинационих способности и хетерозиса за принос зрна испитана је помоћу Spearman-овог коефицијента корелације ранга.

VI – Резултати истраживања и дискусија. У овом поглављу кандидаткиња Сања Перић је изложила и дискутовала добијене резултате кроз седам потпоглавља:

- 6.1. Средње вредности квантитативних особина хибрида и инбред линија кукуруза,
- 6.2. Интервал метличења и свилања (ASI),
- 6.3. Хетерозис у односу на бољег родитеља,
- 6.4. Комбинационе способности инбред линија кукуруза,
- 6.5. Корелација приноса и компоненти приноса,
- 6.6. SSR и SNP молекуларни маркери и њихово поређење и
- 6.7. Међузависност генетичке дистанце, посебних комбинационих способности и хетерозиса у односу на бољег родитеља.

Потпоглавље 6.1. садржи 10 делова, а сваки се односи на по једну испитивану особину. У оквиру сваког посебног дела је помоћу анализе варијансе испитана значајност утицаја фактора године, локације, генотипа и њихових интеракција на варирање приноса зрна, висине биљке, висине горњег клипа, укупног броја листова, броја листова изнад горњег клипа, дужине клипа, броја редова зрна, броја зрна у реду, дубине зрна и масе 1000 зрна. Такође су израчунате и рангиране средње вредности генотипова, уз приказ теста најмање значајне разлике за све особине, у табеларној форми. Резултати анализе варијансе (ANOVA) су указали на веома значајан утицај свих основних фактора (година, локација, генотип) у варирању приноса зрна инбред линија и хибрида. Најприносније инбред линије *per se* су ЗПЛ6 и ЗПЛ4 у двогодишњем периоду испитивања са просечним приносом на свим локацијама од 4,17 t/ha и 4,16 t/ha.

Најприноснији хибриди су били ЗПЛ2 х ЗПЛ4 и ЗПЛ1 х ЗПЛ4, са просечним приносима на свим локацијама од 11,15 t/ha и 10,79 t/ha. Ови хибриди су као очинску компоненту имали инбред линије ЗПЛ1 и ЗПЛ2 које припадају *Lancaster* хетеротичној групи, док је друга компонента (ЗПЛ4) била заједничка код оба најприноснија хибрида и припада BSSS извору. За сваку особину кандидаткиња је дискутовала који генотип је имао највише и најниже вредности кроз године и локације и то је упоређивала са резултатима осталих истраживача.

У потпоглављу 6.2. приказани су резултати о средњим вредностима за интервал метличења и свилања (у данима) код испитиваних генотипова. Кандидаткиња је закључила да је најмањи број дана између метличења и свилања код инбред линија које припадају BSSS хетеротичној групи, док је највећи број дана код инбред линија које припадају *Lancaster* хетеротичној групи.

Потпоглавље 6.3. односи се на хетерозис у односу на бољег родитеља за испитиване хибриде током две године за све квантитативне особине. Кандидаткиња истиче да је хетерозис био израженији током прве године истраживања у односу на другу, као и то да се ниво хетерозиса разликује за различите особине. Такође су истакнуте највише и најниже вредности хетерозиса генотипова за све особине. Највишу вредност хетерозиса у односу на бољег родитеља за принос зрна је испољио хибрид ЗПЛ2 х ЗПЛ4 који је у 2017. години износио 285,88%.

У потпоглављу 6.4. су анализом варијансе израчунате средине квадрата ОКС и ПКС за све проучаване особине као и њихов однос (ОКС/ПКС) који указује на удео адитивне и неадитивне компоненте генетичке варијансе у укупном фенотипском варирању, док је у другом делу урађена оцена посебно општих и посебно посебних комбинационих способности. Инбред линија ЗПЛ4 је имала значајне вредности ОКС за већину испитиваних особина и то је чини добрим општим комбинатором. Треба нагласити да је ова линија имала значајне ОКС вредности и за особине висина биљке и висина клипа, које нису пожељне у оплемењивању кукуруза. Највише вредности ПКС за све особине имале су хибридне комбинације ЗПЛ2 х ЗПЛ4 и ЗПЛ1 х ЗПЛ4. Однос ОКС/ПКС је био мањи од 1 за особине принос зрна (0,53), број редова зрна (0,65), број зрна у реду (0,79) и дубина зрна (0,63) што значи да су ове особине биле под утицајем неадитивних гена (доминација и епистаза). С друге стране, однос ОКС/ПКС је био већи од 1 за особине висина биљке (1,09), висина клипа (2,04), укупан број листова (1,55), број листова изнад клипа (1,40) и дужина клипа (1,33) што указује на преовлађујући утицај адитивних гена. Своје резултате о преовлађујућем утицају адитивних или неадитивних гена за испитиване особине кукуруза кандидаткиња је упоређивала са резултатима других истраживача.

У потпоглављу 6.5. приказани су коефицијенти корелације приноса и компоненти приноса код инбред линија и хибрида. Запажено је да је принос био у позитивној корелацији са компонентама приноса, а што је било очекивано јер свака од компоненти приноса доприноси укупном приносу зрна. Код инбред линија принос је имао највећу корелацију са бројем зрна у реду (0,50), дужином зрна (0,45), масом 1000 зрна (0,35) и дужином клипа (0,32). Највиша позитивна вредност коефицијента корелације била је између висине биљке и висине горњег клипа. Наведени резултати су у складу са резултатима других аутора.

Потпоглавље 6.6. обрађује генетички полиморфизам испитиваних инбред линија кукуруза на основу SSR и SNP молекуларних маркера. Коришћених 36 SSR маркера (парова прајмера) је распоређено на свих 10 хромозома кукуруза, што је помогло да се са високом прецизношћу одреди генетичка сличност (GS) између родитељских инбред линија. SSR маркери су идентификовали укупно 118 алела, односно просечно 3,47 алела по маркеру. Произведен је дендрограм на коме су инбред линије распоређене у складу са њиховом генетичком дистанцом. Две инбред линије из *Lancaster* хетеротичне групе биле су одвојене у посебан субкластер (А), а други субкластер (Б) чиниле су две инбред линије из BSSS извора и три инбред линије из

Независног извора. На основу SNP молекуларних маркера такође је одређена генетичка дистанца између инбред линија и представљена у виду графикона и дендрограма. У овом случају је коришћено 18889 информативних SNP маркера и забележена је веома висока информативност. На графикону је припадност инбред линија хетеротичним групама приказана коришћењем боја. На дендрограму су инбред линије подељене у три посебна субкластера. Први субкластер чине две инбред линије које припадају *Lancaster* хетеротичној групи, други субкластер чине четири инбред линије из BSSS и Независног извора, а у трећем субкластеру се одвојила једна инбред линија из BSSS извора. Поређењем две технике молекуларних маркера кандидаткиња је закључила да иако постоји сличност у резултатима, SNP молекуларни маркери су информативнији и дају прецизнију слику о дивергентности генотипова.

У потпоглављу 6.7. приказани су резултати примене Spearman-овог коефицијента корелације ранга. Вредности корелације ранга између генетичке дистанце инбред линија засноване на молекуларним маркерима и приноса зрна, посебних комбинационих способности и хетерозиса у односу на бољег родитеља биле су позитивне и статистички врло значајне.

VII – Закључак. У овом поглављу кандидаткиња је сумирала резултате и изнела најважније делове дискусије. Констатовала је да постоји врло значајан утицај испитиваних фактора (генотип, година и локација) на варирање приноса зрна инбред линија и хибрида. Истакла је као најприносније инбред линије ЗПЛ6 и ЗПЛ4 и хибриде ЗПЛ2 x ЗПЛ4 и ЗПЛ1 x ЗПЛ4. Указала је да најкраћи интервал између метличења и свилања имају линије из BSSS хетеротичне групе. Навела је проценте хетерозиса за све особине. Такође је указала на најбитније елементе из анализе комбинационих способности и констатовала да на основу односа ОКС/ПКС особине принос зрна, број редова зрна, број зрна у реду и дубина зрна се налазе под контролом неадитивних гена, док се особине висина биљке, висина клипа, укупан број листова, број листова изнад клипа и дужина клипа налазе под преовлађујућим утицајем адитивних гена. Нагласила је да се принос зрна инбред линија налази у најјачој корелацији са бројем зрна у реду. Посебно се осврнула на генетички полиморфизам испитиваних инбред линија применом SSR и SNP молекуларних маркера. Дендрограми добијени применом SSR и SNP молекуларних маркера на сличан начин су груписали испитиване инбред линије у субкластере, што указује да ове две технике имају сличну вредност, уз малу предност SNP маркера због њихове веће информативности. Финални део закључка је да између генетичке дистанце инбред линија засноване на молекуларним маркерима и приноса зрна, посебних комбинационих способности и хетерозиса у односу на бољег родитеља постоји позитивна и статистички веома значајна корелација, односно да су и фенотипска и генетичка удаљености инбред линија добри показатељи очекиваног хетерозиса код хибрида кукуруза.

VIII – Литература. У дисертацији кандидаткиња је на правилан начин навела 213 референци домаћих и страних аутора. Избор референци је актуелан и одговара предмету проучавања. Резултати других аутора су коришћени за поређење са резултатима добијеним у овој дисертацији. Значајан део наведене литературе објављен је у водећим међународним научним часописима и зборницима радова са међународних скупова.

5. Остварени резултати и научни допринос дисертације

Допринос ове докторске дисертације огледа се у испитивању комерцијалних инбред линија и хибрида у различитим годинама и условима спољашње средине ради испитивања приноса, компоненти приноса као и потврде њихове униформности. Идентификоване су инбред линије које су најбољи општи и посебни комбинатори за принос зрна и остале особине од значаја у оплемењивању кукуруза. Међусобним укрштањем инбред линија одређене су

хибридне комбинације са високим хетерозисом и формиране су хетеротичне групе испитиваних инбред линија.

Извршена је молекуларна карактеризација инбред линија применом SSR и SNP маркера и на основу тога је одређена њихова генетичка дистанца као и разврставање у хетеротичне групе. Такође је урађено и поређење молекуларних техника ради провере поузданости добијених резултата, које је указало да оба типа маркера дају сличне вредности генетичке дистанце.

Резултати добијени применом молекуларних маркера били су у сагласности са резултатима добијеним у пољским огледима. То значи да је између фенотипске и генетичке удаљености инбред линија постоји снажна веза. У оплемењивању кукуруза за стварање приносних хибрида и испољавање високог хетерозиса избор родитељских парова може да се заснива на било ком од два приступа. У пракси, сасвим је оправдано применити класичан метод одређивања фенотипске удаљености при планирању хибридизација. Такође, оцена генетичке удаљености инбред линија применом молекуларних маркера даће одличне резултате. Предност молекуларних метода је што се њима може анализирати већи број генотипова, уз то већом брзином и независно од утицаја спољне средине. Метод фенотипске процене треба користити за фина подешавања при избору родитеља за специфичне услове спољне средине.

Комисија сматра да су резултати истраживања добијени у оквиру ове докторске дисертације веома значајни, како за науку, тако и за праксу, јер је кандидат на систематски начин потврдио оплемењивачку вредност постојећих комерцијалних линија и испитао значај некомерцијалних инбред линија које би могле послужити у стварању нових F_1 хибрида кукуруза.

6. Објављени и саопштени резултати

Резултати докторске дисертације Сање Перић су верификовани, публиковањем рада у међународном часопису Генетика:

Perić, S., Stevanović, M., Prodanović, S., Mladenović Drinić, S., Grčić, N., Kandić, V., Pavlov, J. (2021): Genetic distance of maize inbreds for prediction of heterosis and combining ability, *Genetika*, 53 (3): 1219-1228.

DOI 10.2298/GENSR2103219P

7. Закључак и предлог Комисије

Докторска дисертација кандидаткиње Сање Перић, маг. инж. пољ., под насловом: „Утицај фенотипске и генетичке удаљености инбред линија на испољавање хетерозиса код диалелних хибрида кукуруза” представља оригиналан научни рад са теоријским и практичним значајем.

Дисертација представља успешно спроведен самостални експериментално-истраживачки, научни рад кандидаткиње, који је у потпуности реализован у складу са планом и програмом предвиђеним пријавом дисертације. Кандидаткиња је веома успешно обавила експериментални део истраживања примењујући адекватне и савремене методе, а добијени резултати потврђују постављене хипотезе истраживања. Докторска дисертација је технички веома добро организована и уређена, а написана је прегледно и јасним језиком. Сматрамо да дисертација представља значајан допринос разумевању комбинационих способности и диверзитета комерцијалних инбред линија кукуруза.

Имајући у виду све изнето, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију кандидата **Сање Перић, маг. инж. пољ.**, под насловом: „**Утицај фенотипске и генетичке удаљености инбред линија на испољавање хетерозиса код диалелних хибрида кукуруза**” и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, да ову позитивну оцену усвоји и тиме омогући кандидату да приступи јавној одбрани докторске дисертације.

У Београду,
23. 2. 2023. године

Чланови Комисије:

Др Данијела Ристић, виши научни сарадник
Институт за кукуруз „Земун Поље”
(Ужа научна дисциплина: Генетика и оплемењивање биљака)

Др Томислав Живановић, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(Ужа научна област: Генетика)

Др Јасна Савић, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(Ужа научна област: Ратарство, повртарство, цвећарство, крмно и лековито биље)

Прилог:

Објављен рад Сање З. Перић, мастер инжењера у научном часопису на SCI листи који квалификује кандидаткињу за одбрану дисертације:

Perić, S., Stevanović, M., Prodanović, S., Mladenović Drinić, S., Grčić, N., Kandić, V., Pavlov, J. (2021): Genetic distance of maize inbreds for prediction of heterosis and combining ability, Genetika, 53 (3): 1219-1228.

DOI 10.2298/GENSR2103219P

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

**Датум: 23. 2. 2023. године
Београд**

**ОЦЕНА ИЗВЕШТАЈА О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСKE
ДИСЕРТАЦИЈЕ КАНДИДАТКИЊЕ САЊЕ ПЕРИЋ**

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације под насловом: **"Утицај фенотипске и генетичке удаљености инбред линија на испољавање хетерозиса код диалелних хибрида кукуруза"**, аутора **Сање Перић**, констатујемо да утврђено подударање текста износи 31%. Овај степен подударности последица је цитата, личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, општих места и података, као и претходно публикованих резултата истраживања докторанткиње, који су проистекли из његове дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујемо да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Ментор 1: Др Славен Продановић, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(ужа научна област: Оплећењивање биљака)

Ментор 2: Др Милан Стевановић, виши научни сарадник
Институт за кукуруз „Земун Поље”
(Ужа научна дисциплина: Генетика и оплећењивање биљака)
