

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број захтева: 40/11-7.6.
Датум: 21.3.2012. године

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на извештај о урађеној докторској дисертацији

Молимо да, сходно члану 46. став 5. тачка 4. Статута Универзитета у Београду (“Гласник Универзитета” број 131/06), дате сагласност на извештај о урађеној докторској дисертацији кандидата АЛЕКСАНДРА РАДОЈЧИЋА, дипл. инж.

Кандидат АЛЕКСАНДАР (Раде) РАДОЈЧИЋ, дипл. инж., пријавио је докторску дисертацију под називом: «ПРИМЕНА МОЛЕКУЛАРНИХ МАРКЕРА У ПРОУЧАВАЊУ КОМБИНАЦИОНИХ СПОСОБНОСТИ И ХЕТЕРОЗИСА САМООПЛОДНИХ ЛИНИЈА КУКУРУЗА (*Zea mays* L.)»,

из научне области Ратарство и повртарство.

Универзитет је дана 16.4.2009. године, својим актом бр. 612-17/27/09 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: «ПРИМЕНА МОЛЕКУЛАРНИХ МАРКЕРА ЗА ПРОУЧАВАЊЕ КОМБИНАЦИОНЕ СПОСОБНОСТИ И ХЕТЕРОЗИСА САМООПЛОДНИХ ЛИНИЈА КУКУРУЗА (*Zea mays* L.)».

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације АЛЕКСАНДРА РАДОЈЧИЋА, дипл. инж, образована је на седници одржаној 25.01.2012. године, одлуком Факултета под бр. 40/6-6.2. у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област

1. др Гордана Шурлан-Момировић, ред. проф., генетика и оплемењивање биљака,
2. др Томислав Живановић, ред. професор, генетика и оплемењивање биљака,
3. др Ђорђе Гламочлија, редовни професор, ратарство и повртарство,
4. др Славен Продановић, редовни професор, генетика и оплемењивање биљака,
5. др Снежана Младеновић Дринић, научни саветник, ратарство и повртарство.

Наставно-научно веће Факултета прихватило је извештај комисије за оцену и одбрану докторске дисертације, на седници одржаној дана 21.3.2012. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Небојша Ралевић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 40/11-7.6.
Датум: 21.03.2012. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 73. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 21.03.2012. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднео **АЛЕКСАНДАР РАДОЈЧИЋ, дипл. инж.** и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«ПРИМЕНА МОЛЕКУЛАРНИХ МАРКЕРА ЗА ПРОУЧАВАЊЕ КОМБИНАЦИОНЕ СПОСОБНОСТИ И ХЕТЕРОЗИСА САМООПЛОДНИХ ЛИНИЈА КУКУРУЗА (*Zea mays* L.)».**

II Универзитет је дана **16.4.2009.** године, својим актом број **612-17/27/09** дао сагласност на предлог теме докторске дисертације кандидата.

III Рад кандидата у часопису међународног значаја:

Č. N. Radenović, M.G. Jeremić, G. V. Maximov, M. V. Beljanski, and **A. R. Radojčić**, (2009): Mechanisms and Parameters of Transients and Oscillations of Delayed Chlorophyll Fluorescence in the Thylakoid Membrane of the Intact Maize Leaf . Russian Journal of Physical Chemistry, Vol. 83. No 9, pp 1582-1591

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Небојша Ралевић)

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

НАСТАВНО - НАУЧНОМ ВЕЋУ ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

Предмет: Извештај Комисије о оцени урађене докторске дисертације дипл. инж. Александра Радојчића

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду од 22. децембра 2011. године, именована је Комисија за оцenu и одбрану урађене докторске дисертације дипл. инж. Александра Радојчића под насловом: „Примена молекуларних маркера у проучавању комбинационих способности и хетерозиса самооплодних линија кукуруза (*Zea mays* L.)”.

Комисија у саставу: др Гордана Шурлан Момировић, редовни професор, др Томислав Живановић, редовни професор, др Ђорђе Гламочлија, редовни професор, Славен Продановић, редовни професор и др Снежана Младеновић-Дринић, научни саветник, Институт за кукуруз „Земун Поље“, прегледала је и оценила докторску дисертацију и подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација дипл. инж. Александра Радојчића написана је на 112 страница, у оквиру којих се налази 56 табела, 2 графика и 5 слике. Испред основног текста налази се резиме са кључним речима на српском и енглеском језику, као и приказ садржаја. У докторској дисертацији је цитирано и у литератури наведено 172 референце.

Дисертација се састоји из следећих поглавља: 1. Увод (стр. 1-2), 2. Циљ истраживања (стр. 3), 3. Преглед литературе (стр. 4-15), 4. Радна хипотеза (стр. 16), 5. Материјал и метод рада (стр. 17-26), 6. Резултати истраживања (стр. 27-86), 7. Дискусија (стр. 87-96), 8. Закључак (стр. 97-99) и 9. Литература (стр. 100-112).

2. Приказ и анализа докторске дисертације

У поглављу „Увод” истакнут је значај примене молекуларних маркера у савременој селекцији линија и хибрида кукуруза. Кандидат наводи да стандардне методе у оплемењивању кукуруза подразумевају бројна тестирања, односно укрштања самооплодних линија са различитим тестерима, како би се добила информација о генетичкој сличности, односно различитости ових линија. Што су родитељи генетички различитији до одређене границе повећава се хетерозис њихових потомака и обрнуто. На основу тога самооплодне линије кукуруза се разврставају у одређене хетеротичне групе. Кандидат истиче да се на бази података родитељске, *F1*, *F2*, *BC1* и *BC2* генерације, помоћу системских укрштања самооплодних линија кукуруза, могу је израчунати важни генетички параметри битни за проучавање квантитативних и квалитативних особина. Истовремено, ова опсежна тестирања у пољу представљају најскупљи и најдуготрајнији део савремене селекције кукуруза, а треба имати на уму да је ова техника веома рестриктивна због тога што само мали број самооплодних линија може бити укрштен и оцењен.

У овој докторској дисертацији је стога истакнуто да би алтернатива оцењивању самооплодних линија на бази укрштања и тестирања са већим бројем тестера, могло би бити разврставање линија по хетеротичним групама засновано на молекуларним маркерима. Молекуларни маркери омогућују да се директно одреди број за који се две инбред линије разликују при датом броју локуса. На основу генетичке дистанце, процењене помоћу молекуларних маркера, може се предвидети успех хибрида пре укрштања родитеља и

оцењивања самих хибридних комбинација у пољу. Кандидат наводи да би овакав приступ омогућио да се испита већи број линија за релативно кратко време, што би повећало ефикасност програма оплемењивања кукуруза.

У поглављу „**Циљ истраживања**” кандидат истиче да је процена општих и посебних комбинационих способности, материнских, реципрочних и нематеринских ефекта, као и других генетичких параметара, од великог је значаја за брже стварање нових или побољшање постојећих самооплодних линија кукуруза, које ће дати F1 хибриде бољих перформанси. Стога је први циљ спроведених истраживања био да се утврде опште и посебне комбинационе способности, реципрочни ефекти, матерински и нематерински ефекти и хетерозис за агрономске особине кукуруза: принос зрна, дужина клипа, број редова зрна, број зрна у реду, маса 1000 зрна, висина биљке и висина биљке до клипа, код диалелног укрштања шест самооплодних линија кукуруза. Кандидат истовремено наводи да у последњих двадесет година све ширу примену у савременим програмима селекције и оплемењивања кукуруза, налазе и методе молекуларних маркера, како за разврставање самооплодних линија кукуруза у хетеротичне групе, тако и за предвиђање хетеротичних ефеката у F1 генерацији. Због тога је други циљ ових истраживања био да се помоћу RAPD и SSR маркера генетички окарактеришу проучаване самооплодне линије кукуруза и разврстају у хетеротичне групе.

Крајњи резултат ова докторска дисертација треба да покаже да ли постоји и колика је корелација података добијених у пољском огледу методом диалелне анализе комбинационих способности и података добијених анализом RAPD и SSR маркера, односно да ли се комбинационе способности и хетерозис за испитиване агрономске особине могу предвидети применом молекуларних маркера.

У оквиру поглавља „**Преглед литературе**” изнети су литературни извори из области која је предмет проучавања докторске дисертације. Приказан је историјат и значај класичних метода селекције и оплемењивања биљака, дефиниција и значај феномена хетерозиса, теоријске основе диалелног система укрштања, комбинационих способности и реципрочних ефеката. Кандидат је дао преглед и најзначајније карактеристике статистичких метода и статистичких програма за обраду података добијених системом диалелног укрштања и оцене комбинационих способности и реципрочних ефеката.

У другом делу прегледа литературе кандидат је дао преглед највише корићених метода молекуларних маркера у савременој селекцији и оплемењивању кукуруза. За маркер технике коришћене у овој докторској дисертацији дате су теоријске основе, предности и недостаци ових техника. На крају овог поглавља кандидат је дао преглед најзначајнијих резултата истраживања из ове области.

У поглављу „**Радна хипотеза**” кандидат је навео основне претпоставке од којих се полази у овој докторској дисертацији. Као прво, кандидат претпоставља да поједине испитиване самооплодне линије кукуруза поседују релативно боље опште, односно посебне комбинационе способности у поређењу са другим линијама, на основу чега би биле одабране за стварање високородних F1 хибрида кукуруза или као извори пожељних гена за одређену особину у даљим програмима селекције и оплемењивања кукуруза.

Такође, у овој докторској дисертацији се претпоставља да ће реципрочно укрштање утицати на ефекат комбинационих способности неких испитиваних особина, што би значило да су за наслеђивање ових особина, осим једарних, одговорни и гени из цитоплазме (геноми митохондрија и пластида), као и производи интеракције једарних и цитоплазматичних гена.

И на крају се очекује да резултати RAPD и SSR маркер анализе буду сагласни са резултатима добијеним анализом варијансе комбинационих способности, односно да се хетерозис и комбинационе способности до одређене границе могу предвидети применом молекуларних маркера. Разврставањем самооплодних линија кукуруза у хетеротичне групе на бази молекуларних маркера значајно би се убрзао поступак оплемењивања, будући да лабораторијске анализе трају знатно краће него бројна пољска тестирања самооплодних линија.

У поглављу „**Материјал и методе**” докторант је дао приказ коришћеног генетичког материјала за истраживања, начин постављања и извођења експеримената, као и примену статистичких метода у обради и интерпретацији података.

У овом раду проучавано је шест самооплодних линија кукуруза стандардног квалитета зрна и различитог генетичког порекла: *L680 (BSSS, B73 tun)*, *L275 (LSC)*, *L175 (LSC, Mo17 tun)*, *L173 (LSC, Mo17 tun)*, *L142 (несродан извор са BSSS и LSC)*, *L357 (несродан извор са BSSS и LSC)*.

Одабране самооплодне линије су укрштене на селекционом пољу Института за кукуруз “Земун Поље”, по методу диалелног укрштања са реципрочним комбинацијама [$n(n-1)$]. Укрштањем шест самооплодних линија добијено је тридесет комбинација хибридног семена F1 генерације. Оглед са самооплодним линијама и F1 хибридама је изведен на огледном пољу Института за кукуруз “Земун Поље” током 2003, 2004 и 2006. године. Оглед је постављен по плану подељених парцела (SPLIT-PLOT), са распоредом третмана (генотип) унутар главних парцела (густине усева) по потпуно случајном блок систему (RCBD).

У раду су праћене следеће агрономске особине: принос зрна кукуруза са 14 % влаге (t/ha), дужина клипа (cm), број редова зрна, број зрна у реду, маса 1000 зрна (g), дубина зрна (mm), висина биљке (cm), висина биљке до клипа (cm).

Статистичко-биометријска обрада података извршена је анализом варијансе (ANOVA), трофакторијалног огледа (година / густина / генотип), према фиксном моделу за генотип и рандом моделу за године и густине усева.

Анализа општих, посебних комбинационих способности, реципрочних ефеката, материнских или општих реципрочних ефеката и нематеринских или посебних реципрочних ефеката, извршена је помоћу основног модела предложеног од стране GRIFFING-a. Примењен је математички модел I и метод 1, који укључује родитељске линије и F1 генерацију (оригиналне комбинације и реципрочна укрштања).

Подаци су обрађени помоћу статистичких програма MSTAT-C v1.42, Diallel Analysis v1.1 и DIALLEL-SAS05.

Херитабилност у ширем смислу израчуната је помоћу компонената варијансе општих и посебних комбинационих способности према формули ТЕКЛЕВОЛД-а и БЕКЕР-а. Процена перформанси F1 потомстава испитиваних родитељских линија извршена је на основу генетичког односа компонената варијансе комбинационих способности, предложеног од БАКЕР-а. Хетерозис за све особине је израчунат у односу на бољег родитеља и приказан је као апсолутни и релативни хетерозис.

Генетичка различитост испитиваних родитељских линија кукуруза је утврђена применом RAPD и SSR маркера. PCR анализа са 10 RAPD прајмера урађена је по методи WILLIAMS-a, а PCR анализа са 29 парова SSR прајмера урађена је по методи SENIOR и сар. Након RAPD и SSR анализе утврђено је присуство одговарајућег маркера (ДНК траке) у гелу и подаци су трансформисани у бинарне (0 и 1). На основу добијене матрице израчуната је генетичка дистанца помоћу коефицијента генетичке сличности између парова генотипова по JACCARD-у.

Кластер анализом (UPGMA метод), уз помоћ NTSYS-pc v2.1 рачунарског програма самооплодне линије су груписане у одговарајуће хетеротичне групе, а на основу матрице генетичке сличности по Jaccard-у. Резултати кластер анализе приказани су графички у форми дендограма.

Корелација резултата агрономских особина добијених мерењима у пољу са резултатима добијеним анализом молекуларних маркера утврђена је помоћу Spearman-овог коефицијента корелације ранга.

Поглавља „**Резултати**” и „**Дискусија**” представљају најважнији део докторске дисертације. Резултати истраживања се састоје од 4 подпоглавља. У првом подпоглављу приказани су резултати анализе агрономских особина на основу пољских огледа изведених током три године. Када се сумирају остварени резултати свих агрономских особина праћених у овој докторској дисертацији, могу се извући следеће закључци: за различите посматране

особине, различите линије су имале боље или лошије просечне вредности *per se*, као и опште комбинационе способности. Највише просечне вредности за све испитиване особине остварене су укрштањем линија различитог генетичког порекла, док су најниже вредности утврђене код укрштања сродних линија. Такође, највише и истовремено статистички значајне вредности посебних комбинационих способности утврђене су код потомства генетички различитијих родитеља. За већину испитиваних особина вредности материнских, реципрочних и нематеринских ефеката нису биле статистички значајне, што говори да су најважније агрономске особине кукуруза предодређене утицајем једарних, а не гена из цитоплезме. И на крају, као и код посебних комбинационих способности најјачи хетеротични ефекат испољен је код укрштања линија из различитих хетеротичких група, а најслабији углавном статистички незначајан код укрштања сродних линија.

У другом подпоглављу приказани су резултати анализе молекуларних маркера. Применом RAPD и SSR анализе су добијени сагласни резултати, а истовремено су ови резултати били подударни са резултатима комбинационих способности и хетерозиса утврђених у пољском огледу.

У трећем подпоглављу приказани су резултати кластер анализе на основу молекуларних маркера. Кластер анализом вредности из матрице генетичких дистанци израчунатих помоћу RAPD и SSR маркера, шест самооплодних линија кукуруза је разврстано у два кластера. Најнижа вредност генетичке дистанце је утврђена између линија L175 и L173, те ове линије сачињавају подкластер А. Подкластер В сачињавају линије L142 и L357, за које је такође утврђена ниска вредност генетичке дистанце. Линија L275 је на основу генетичких дистанци груписана у подкластер А, будући да је генетички ближа линијама из овог подкластера док је линија L680 придружена линијама из подкластера В, иако је генетички дивергентна у односу на линије оба подкластера. На основу познатог педигреа испитиваних самооплодних линија може се закључити да подкластер А чине линије из групе Lancaster-a, док други подкластер чине линије које су несродне са Iowa Stiff Stalk Syntetic-ом (BSSS) и Lancaster S.C. Самооплодна линија L680 по пореклу припада хетеротичној групи Iowa Stiff Stalk Syntetic (BSSS) и као таква је генетички доста дивергентнија у односу на остале испитиване линије кукуруза. Добијени кластери на основу RAPD и SSR анализе су у потпуности сагласни са педигреом испитиваних самооплодних линија кукуруза, што потврђује да су обе методе молекуларних маркера веома поуздане за разврставање самооплодних линија кукуруза у хетеротичне групе.

И на крају у четвртом поглављу су приказани резултати коефицијената корелације ранга по *Spearman*-у, између комбинационих способности и хетерозиса са једне стране и резултата генетичке дистанце на основу молекуларних маркера са друге стране. За особине принос зрна и дужина клипа кукуруза утврђен је статистички високо значајан коефицијент корелације, нарочито између вредности добијених помоћу SSR маркера и вредности анализе варијансе комбинационих способности. Најјачи статистички високо значајан коефицијент корелација утврђен је између генетичке дистанце помоћу SSR маркера и посебних комбинационих способности за особину дужина клипа кукуруза. Такође, висока вредност коефицијента корелације између генетичке дистанце помоћу генетичких маркера и посебних комбинационих способности добијена је код особине принос зрна кукуруза. Код особина принос зрна и дужина клипа кукуруза утврђен знатно виши ниво сагласности резултата квантитативне анализе са резултатима SSR маркера, него са резултатима RAPD маркера. Такође, више вредности коефицијента корелације ранга су утврђене између посебних комбинационих способности и генетичких дистанци на основу молекуларних маркера, него између хетерозиса и генетичких дистанци на основу молекуларних маркера.

Поглавље „Дискусија” се састоји од три подпоглавља у којима су размотрени резултати истраживања ове докторске дисертације и упоређени са резултатима других аутора који су радили на истој или сличној проблематици.

У „Закључку” су сумирани резултати спроведених истраживања. Као коначан закључак кандидат наводи да молекуларни маркери могу бити поуздана техника за

утврђивање генетичке различитости самооплодних линија кукуруза и њихово разврставање у хтеротичне групе, али истовремено су технике молекуларних маркера још увек недовољно поуздане за предвиђање хетерозиса и комбинационих способности хибридних комбинација и могу имати само ограничену примену.

У поглављу „**Литература**” наведен је списак од 172 референце које су у докторској дисертацији коришћене као основ за примењене методе истраживања и за поређење добијених резултата са другим истраживањима. Референце су сложене по абecedном реду и написане правилно, у складу са прихваћеним стандардима за навођење.

3. Закључак и предлог

У докторској дисертацији Александра Радојчића циљ је био да се да покаже да ли постоји и колика је корелација података добијених у пољском огледу методом диалелне анализе комбинационих способности и података добијених анализом RAPD и SSR маркера, односно да ли се комбинационе способности и хетерозис за испитиване агрономске особине могу предвидети применом молекуларних маркера.

Истраживања имају широк практичан значај ако се узме у обзир да наведене методе молекуларних маркера налазе све већу примену, нарочито у савременој селекцији и оплемењивању кукуруза.

Истраживања у докторској дисертацији обављена су у потпуности према програму предвиђеном у пријави. Посебно треба истаћи да резултати које је кандидат добио у својим истраживањима представљају оригинална решења и драгоцено искуство за даљу комерцијалну примену у свременој селекцији и оплемењивању кукуруза.

Узимајући у обзир све наведено, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију Александра Радојчића, дипл. инж., под насловом: „Примена молекуларних маркера у проучавању комбинационих способности и хетерозиса самооплодних линија кукуруза (*Zea mays* L.)“ и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да ову оцену усвоји, чиме би се пружила могућност кандидату да приступи јавној одбрани ове докторске дисертације.

У Београду, 02.02.2012. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

Др Гордана Шурлан Момировић, редовни професор
Пољопривредни факултет Универзитет у Београд

Др Томислав Живановић, редовни професор
Пољопривредни факултет Универзитет у Београд

Др Ђорђе Гламочлија, редовни професор
Пољопривредни факултет Универзитет у Београд

Др Славен Продановић, редовни професор
Пољопривредни факултет Универзитет у Београд

Др Снежана Младеновић-Дринић, научни саветник
Институт за кукуруз „Земун Поље”

Рад објављен у часопису који је на SCI листи:

Č. N. Radenović, M.G. Jeremić, G. V. Maximov, M. V. Beljanski, and **A. R. Radojčić**,(2009):
Mechanisms and Parameters of Transients and Oscillations of Delayed Chlorophyll Fluorescence
in the Thylakoid Membrane of the Intact Maize Leaf . *Russian Journal of Physical Chemistry*,
Vol. 83. No 9, pp 1582-1591