

# УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

## ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

### ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>
<p>1. Датум и орган који је именовео комисију</p> <p>12.03.2020. Наставно-научно веће Природно-математичког факултета, Универзитет у Новом Саду</p>
<p>2. Састав комисије са знаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <p>др Дејан Беуковић, доцент, Исхрана животиња, 23.06.2016., Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду - Председник</p> <p>др Михаило Јелић, доцент, Генетика и еволуција, 26.04.2018., Биолошки факултет, Универзитет у Београду - Члан</p> <p>др Михајла Ђан, редовни професор, Генетика, 17.07.2018., Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду - Ментор</p> <p>др Франц Зухентрунк, научни саветник, Еколошка генетика, 01.11.1994., Универзитет ветеринарске медицине у Бечу, Аустрија – Ментор</p>
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: <b>Миломир, Миљко, Стефановић</b></p>
<p>2. Датум рођења, општина, држава: 02.05.1985., Чачак, Србија</p>
<p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, Дипломирани биолог – мастер (модул: молекуларни биолог)</p>
<p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2014., Доктор наука – биолошке науке</p>
<p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране:</p>
<p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:</p>
<b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>
<p>Молекуларни диверзитет и генетички сигнали локалних адаптација врсте <i>Lepus europaeus</i> Pallas, 1778 у хетерогеним условима средине / Molecular diversity and genetic signatures of local adaptations in brown hares (<i>Lepus europaeus</i> Pallas, 1778) from heterogeneous landscapes</p>

#### IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У докторској дисертацији „Молекуларни диверзитет и генетички сигнали локалних адаптација врсте *Lepus europaeus* Pallas, 1778 у хетерогеним условима средине / Molecular diversity and genetic signatures of local adaptations in brown hares (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) from heterogeneous landscapes” сагледан је молекуларни диверзитет, филогеографска структура, просторна дистрибуција молекуларног диверзитета, као и присуство дејства природне селекције и генетичких сигнала локалних адаптација код врсте *Lepus europaeus* са територије Европе и Блиског Истока, а на основу анализе варијабилности секвенци D петље, *MT-ND2*, *MT-ND6*, *MHC-DQA*, *MHC-DQB* и *TLR2* гена. Докторска дисертација кандидата Миломира Стефановића написана је на српском језику, латиничним писмом са проширеним изводом на енглеском језику. Све илустрације, табеле и прилози приказани су двојезично, на српском и енглеском језику. Дисертација садржи 190 страна А4 формата. Текст је написан на 165 страна и подељен је у 10 поглавља (Увод - 3 стране, Преглед литературе – 16 страна, Циљеви истраживања – 2 стране, Материјал и методе – 19 страна, Резултати – 45 страна, Дискусија – 22 стране, Закључак – 2 стране, Литература – 21 страна, Прилози – 17 страна, Extended abstract – 19 страна). Дисертација садржи 30 табела, 20 слика, 8 прилога и 221 литературни навод. На почетку дисертације налази се Цитат, Захвалница, Садржај, Листа скраћеница, Листа илустрација, Листа табела и Листа прилога. На крају је дата Биографија кандидата и Кључна документацијска информација на српском и енглеском језику.

#### V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У поглављу УВОД приказан је кратак осврт на досадашње анализе молекуларног диверзитета код врсте *Lepus europaeus* применом адаптивно неутралних молекуларних маркера. Наглашен је значај примене молекуларних маркера који су под дејством селекције са нагласком на гене имунског система, као и на гене који кодирају компонентне електрон транспортног ланца. Образложена је потреба за применом адаптивних маркера у анализи молекуларног диверзитета код врсте *Lepus europaeus*.

Комисија оцењује да је поглавље Увод концизно и да по садржају адекватно уводи у проблематику докторске дисертације.

Поглавље ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ садржи пет потпоглавља. На почетку је дат опис општих карактеристика испитиване врсте. Након тога указано је на значај сагледавања молекуларног диверзитета у природним популацијама, као и на предности примене адаптивних молекуларних маркера. Потом је дат преглед карактеристика митохондријске ДНК и гена имунског система као адаптивних молекуларних маркера и указано је на карактеристике које ове маркере чине погодним за сагледавање молекуларног диверзитета природних популација. У последњем потпоглављу дат је приказ досадашњих студија у којима су молекуларни маркери коришћени за опсивање генетичке варијабилности код врсте *Lepus europaeus*.

Комисија оцењује да је поглавље Преглед литературе систематично и свеобухватно приказано.

У наредном поглављу кандидат поставља следеће ЦИЉЕВЕ ИСТРАЖИВАЊА:

1. Одређивање основних параметара молекуларног диверзитета врсте *Lepus europaeus* са територије Европе и Блиског Истока, на основу анализе варијабилности секвенци D петље, *MT-ND2*, *MT-ND6*, *MHC-DQA*, *MHC-DQB* и *TLR2* гена
2. Одређивање филогеографске структуре, демографске историје и просторне дистрибуције генетичке варијабилности врсте *Lepus europaeus* на основу варијабилности нуклеотидних секвенци D петље митохондријске ДНК
3. Одређивање филогеографске структуре и просторне дистрибуције генетичке молекуларног диверзитета врсте *Lepus europaeus* на основу анализе *MT-ND2* и *MT-ND6* гена митохондријске ДНК
4. Одређивање филогеографске структуре и просторне дистрибуције генетичке варијабилности на основу анализе *MHC-DQA*, *MHC-DQB* и *TLR2* гена код врсте *Lepus europaeus* са територије Европе и Блиског Истока
5. Уочавање молекуларних сигнала деловања природне селекције у обликовању варијабилности *MT-ND2*, *MT-ND6*, *MHC-DQA*, *MHC-DQB* и *TLR2* гена код врсте *Lepus europaeus* са територије Европе и Блиског Истока, као и присуства генетичких сигнала локалних адаптација испитиваних гена у корелацији са срединским – климатским варијаблама

Комисија оцењује да је кандидат јасно дефинисао циљеве докторске дисертације.

Поглавље МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ садржи три потпоглавља. У првом потпоглављу наведени су подаци о броју сакупљених узорка, локалитетима узорковања, као и начину прикупљања и чувања

узорака до лабораторијских анализа. У другом потпоглављу приказани су детаљни протоколи за изолацију геномске ДНК, умножавање одабраних молекуларних маркера применом ланчане реакције полимеразе, визуелизацију продуката реакције и поступак секвенцирања. У последњем потпоглављу приказане су статистичке методе коришћене у обради и анализи молекуларних података, са наводом коришћених приступа, програмских пакета и подешавања која су постављана у анализама.

Комисија сматра да је поглавље Материјал и методе детаљно, свеобухватно и да обезбеђује све неопходне податке.

Поглавље РЕЗУЛТАТИ истраживања подељено је у два потпоглавља. У првом потпоглављу приказани су резултати молекуларног диверзитета маркера митохондријске ДНК. Представљени су резултати анализе филогенетских односа и филогеографске структуре, резултати анализе просторне дистрибуције молекуларног диверзитета, резултати сагледавања дејства природне селекције, као и присуства сигнала молекуларних адаптација на основу анализе испитиваних маркера митохондријске ДНК. У другом потпоглављу приказани су резултати молекуларног диверзитета гена имунског система. Приказани су резултати анализе филогенетских односа и филогеографске структуре, резултати анализе просторних образаца дистрибуције молекуларног диверзитета, као и резултати детекције сигнала природне селекције и присуства молекуларних сигнала локалних адаптација на основу анализе гена имунског система. Поред текстуалног приказа, Резултати су приказани табеларно и графички, при чему је свака табела и илустрација приказана двојезично, на енглеском и српском језику.

Комисија оцењује да су резултати истраживања систематично изложени, јасно приказани и адекватно сумирани.

У делу ДИСКУСИЈА приказана је анализа добијених резултата заједно са интерпретацијом у односу на актуелне литературне податке. Поглавље Дискусија је подељено тематски у пет потпоглавља. У оквиру сваког потпоглавља истовремено су дискутовани резултати добијени применом маркера митохондријског генома, као и маркера једарног генома. У првом потпоглављу дискутован је молекуларни диверзитет врсте *Lepus europaeus* на основу анализе нуклеотидних секвенци испитиваних молекуларних маркера митохондријског и једарног генома. У наредном потпоглављу дискутована је филогеографска структура и филогенетски односи. У трећем потпоглављу дискутована је просторна дистрибуција генетичке варијабилности. У четвртном потпоглављу дискутовани су резултати дејства природне селекције на једарне и мтДНК гене. У последњем потпоглављу дискутовани су резултати генетичких сигнала локалних/регионалних адаптација врсте *Lepus europaeus*. Дискусија резултата кроз тематска поглавља истовременим праћењем маркера митохондријског и једарног генома омогућава олакшано праћење и интеграцију резултата који су у претходном поглављу приказани по потпоглављима за сваки од испитиваних генома одвојено.

Комисија оцењује да је кандидат свеобухватно и критични сагледао, образложио и продискутовао резултате истраживања.

У оквиру поглавља ЗАКЉУЧАК, на основу добијених резултата наведени су закључци. Комисија оцењује да су наведени закључци правилно изведени и јасно и разумљиво формулисани у складу са постављеним циљевима докторске дисертације.

У оквиру поглавља Литература наведен је списак литературних навода цитираних у дисертацији, укупно 221. Сви литературни наводи су уско везани за проблематику истраживања, а литература савремена и адекватно одабрана.

Дисертација садржи осам прилога у поглављу ПРИЛОЗИ. Сви прилози су информативни и на адекватан начин употпуњују дисертацију.

На крају дисертације налази се поглавље EXTENDED ABSTRACT написано на енглеском језику. Ово поглавље садржи основне информације из свих поглаваља приказаних у тексту на српском језику, од Увода до Закључка. У овом делу дат је преглед резултата и сажета дискусија истих са наглашеним основним закључцима, уз адекватно позивање на Табеле и Слике које су двојезично наведене у раду.

**VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ**

Резултати истраживања докторске дисертације објављени су у следећим научним радовима:

а) M21, Рад у врхунском међународном часопису

Stefanović, M., Djan, M., Veličković, N., Beuković, D., Lavadinović, V., Zhelev, C.D., Demirbaş, Y., Paule, L., Gedeon, C.I., Mamuris, Z., Posautz, A., Beiglböck, C., Küber-Heiss, A., Suchentrunk, F. 2019. Positive selection and precipitation effects on the mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 6 gene in brown hares (*Lepus europaeus*) under a phylogeographic perspective. *PloS one*, 14(11). IF=2,776 (2018)

б) M23, Рад у међународном часопису

Stefanović, M., Djan, M., Veličković, N., Demirbaş, Y., Paule, L., Gedeon, C.I., Posautz, A., Beiglböck, C., Küber-Heiss, A., Suchentrunk, F. 2019. Purifying selection shaping the evolution of the Toll-like receptor 2 TIR domain in brown hares (*Lepus europaeus*) from Europe and the Middle East. *Molecular Biology Reports* 47: 2975-2984. IF=2,107(2018)

в) M34, Саопштење са међународног скупа штампано у изводу

Stefanović, M., Djan, M., Veličković, N., Beuković, D., Lavadinović, V., Zhelev, C.D., Demirbaş, Y., Paule, L., Gedeon, C.I., Mamuris, Z., Posautz, A., Beiglböck, C., Küber-Heiss, A., Suchentrunk, F. 2019. Precipitation effects on the NADH dehydrogenase subunit 6 gene in brown hares (*Lepus europaeus*) from Europe and Asia Minor. Abstract from the 6<sup>th</sup> Congress of the Serbian Genetic Society, October 13-17, Vrnjačka Banja, Serbia, p. 135

г) M64, Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу

Stefanović M., Đan M., Veličković N., Lavadinović V., Beuković D., Alves P., Suchentrunk F., 2017. Phylogeography and past demographic processes of brown hares (*Lepus europaeus*) in Europe and the Middle East. Abstract from the 91<sup>st</sup> Annual Meeting of the Germany Society of Mammalogy, September 18-21, Greifswald, Germany, p. 152

## VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу резултата истраживања, кандидат изводи следеће закључке:

1. уочен је висок ниво параметара молекуларног диверзитета за све испитиване молекуларне маркере
2. уочено је присуство филогеографске структурираности врсте на основу мтДНК, као и постојање две велике кладе, једне која обухвата јединке са територије Блиског Истока, и друге која обухвата јединке са територије Европе, а која се на основу варијабилности секвенци D петље мтДНК може додатно поделити у балканску и централноевропску хаплогрупу
3. анализе демографске историје мтДНК молекула указале су на постојање популационе стабилности код јединки са територије Анадолије, односно сигнал популационе експанзије код јединки са територије Европе. Временско датирање на основу секвенци D петље мтДНК указало је на постојање најдуже историје код јединки са територије Анадолије, затим експанзију код јединки са територије Балкана која започиње пре око 50000 година, као и експанзију код јединки са територије централне и западне Европе која започиње пре око 12000 година
4. уочен је асиметричан проток гена јединки са територије Анадолије на територију Балкана на основу D петље мтДНК, *MT-ND2* и *MT-ND6* гена, док је на основу секвенци D петље мтДНК уочена готово три пута већа стопа протока гена са Балкана у централну и западну Европу
5. утврђено је постојање просторне дистрибуције мтДНК варијанти, које је указало на постојање четири просторне групе, код којих је уочен градијент опадања параметара молекуларног диверзитета од југа ка северу
6. утврђено је присуство сигнала позитивне селекције у оквиру *MT-ND6* гена, као и ефекат климатских параметара (преципитације) на дистрибуцију протеинских варијанти ND6C и ND6F, као могућа последица регионалних адаптација на разлике у срединским условима
7. уочено је одсуство сигнала филогеографске структурираности на основу *MHC-DQA*, *MHC-DQB* и *TLR2* гена, као и сигнал трансспецијских полиморфизама
8. уочено је постојање просторне структурираности на основу гена имуноског система, и дефинисане су две просторне групе, једна која је обухватала јединке са територије Блиског Истока, и друга која је обухватала јединке са територије Европе
9. више вредности параметара молекуларног диверзитета уочене су у анадолијској групи, у поређењу са европском групом
10. уочен је сигнал деловања позитивне и негативне селекције у *MHC-DQA* и *MHC-DQB* генима, као и сигнал негативне селекције у *TLR2* гену
11. уочен је ефекат климатских параметара на дистрибуцију најзаступљенијих протеинских варијанти *MHC-DQA* и *MHC-DQB* гена као индиректни показатељ имуногенетичких адаптација на средински условљене претпостављене разлике у дистрибуцији патогена
12. механизам обликовања варијабилности *MHC* гена резултат је узајамног деловања мутација, рекомбинација и селекције

## VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

На основу прегледа докторске дисертације, Комисија сматра да је она јасно структурирана. Резултати истраживања су прегледно представљени и правилно анализирани, детаљно дискутовани и упоређени са резултатима других аутора. На основу резултата и дискусије изведени су закључци који дају одговор на постављене циљеве истраживања. Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачење резултата истраживања.

Напомена: докторска дисертација је у библиотеци ПМФ-а прошла проверу плагијарности применом софтвера iThenticate, који је показао да "similarity index" износи 5% (према упутству произвођача све вредности испод 15% представљају оригиналан рад)

## IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

Да, Комисија оцењује да је докторска дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Дисертација садржи све битне елементе: јасно дефинисану тему и значај истраживања, преглед

<p>постојећих истраживања и научне заснованости истраживања, јасно дефинисане циљеве, приказ материјала и методологије рада, систематичан приказ резултата и адекватну дискусију у светлу постојећих истраживања. Закључци су правилно изведени на основу добијених резултата и приказан је списак коришћене литературе.</p>
<p>3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци</p> <p>Резултати докторске дисертације представљају значајан оригинални допринос сагледавању молекуларног диверзитета врсте <i>Lepus europaeus</i>. Први пут у анализи молекуларног диверзитета ове врсте коришћене су нуклеотидне секвенце <i>MT-ND6</i> и <i>TLR2</i> гена и показана њихова валидност као молекуларних маркера у откривању диверзитета врсте <i>Lepus europaeus</i>. Резултати истраживања јасно указују на значај истовременог сагледавања молекуларног диверзитета применом како адаптивно неутралних, тако и маркера који су под дејством природне селекције. Истраживање представља оригиналан допринос досадашњим анализама молекуларног диверзитета испитиване врсте и открива до сада недефинисане обрасце просторне структурираности врсте, генетичке сигнале селекције и ефекте климатских параметара на дистрибуцију протеинских варијанти одабраних молекуларних маркера.</p>
<p>4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања</p> <p>Комисија сматра да докторска дисертација нема недостатака који би утицали на тачност резултата истраживања и изведене закључке.</p> <p>Комисија оцењује да је дисертација написана у складу са постављеним циљевима, да су одабране адекватне методе, да су резултати јасни и исцрпни, а дискусија у складу са добијеним резултатима.</p>
<p><b>X ПРЕДЛОГ:</b></p>
<p>На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:</p>
<p>На основу укупне оцене дисертације, Комисија предлаже да се докторска дисертација под називом „Молекуларни диверзитет и генетички сигнали локалних адаптација врсте <i>Lepus europaeus</i> Pallas, 1778 у хетерогеним условима средине / Molecular diversity and genetic signatures of local adaptations in brown hares (<i>Lepus europaeus</i> Pallas, 1778) from heterogeneous landscapes “ <b>прихвати</b>, а кандидату Миломиру Стефановићу <b>одобри одбрана</b>.</p>

#### ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

\_\_\_\_\_  
 др Дејан Беуковић, доцент, Пољопривредни  
 факултет, Универзитет у Новом Саду

\_\_\_\_\_  
 др Михаило Јелић, доцент, Биолошки факултет,  
 Универзитет у Београду

\_\_\_\_\_  
 др Михајла Ђан, редовни професор, Природно-  
 математички факултет, Универзитет у Новом  
 Саду

\_\_\_\_\_  
 др Франц Зухентрунк, научни саветник,  
 Универзитет ветеринарске медицине у Бечу