

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ -
ШУМАРСКОГ ФАКУЛТЕТА

Предмет: Извештај Комисије за оцену израђене докторске дисертације мастер инжењера шумарства Бранислава Цвјетковића под насловом "Генетичко-физиолошка варијабилност смрче (*Picea abies* Karst.) у тестовима потомства у Босни и Херцеговини"

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

1. Орган који је именовано (изабрао) комисију и датум:

Наставно-научно веће Шумарског факултета, Универзитета у Београду, Одлука број 01-2/110 од 18.07.2018. године.

2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датум избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:

1. Др Мирјана Шијачић-Николић, редовни професор Универзитета у Београду - Шумарског факултета, ужа научна област: Семенарство, расадничарство и пошумљавање, датум избора: 14.12.2011. године, Универзитет у Београду - Шумарски факултет
2. Др Милан Матаруга, редовни професор Универзитета у Бањој Луци - Шумарског факултета, ужа научна област: Шумарска генетика и оснивање шума, датум избора: 03.10.2014. године, Универзитет у Бањој Луци - Шумарски факултет
3. Др Драгица Вилотић, редовни професор Универзитета у Београду - Шумарског факултета, ужа научна област: Семенарство, расадничарство и пошумљавање, датум избора: 19.03.2003. године, Универзитет у Београду - Шумарски факултет
4. Др Владан Иветић, ванредни професор Универзитета у Београду - Шумарског факултета, ужа научна област: Семенарство, расадничарство и пошумљавање, датум избора: 17.06.2015. године, Универзитет у Београду - Шумарски факултет
5. Др Саша Орловић, научни саветник Института за низијско шумарство и животну средину Нови Сад, ужа научна област: Семенарство, расадничарство и пошумљавање, датум избора: 11.05.2005. године, Министарство науке Републике Србије и редовни професор Универзитета у Новом Саду - Пољопривредног факултета, ужа научна област Шумарство, датум избора 24.03.2016. године Универзитет у Новом Саду – Пољопривредни факултет

II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

Име, име једног родитеља, презиме: Бранислав (Новак) Цвјетковић

Датум и место рођења, општина, држава: 24.04.1983. године, Сребреник, Босна и Херцеговина

Датум одбране, место и назив магистарске тезе/мастер рада: 21.10.2011. године, Шумарски факултет Универзитета у Београду, Утицај микобиота на динамику клијања и могућност чувања сјемепа Панчићеве оморике (*Picea omorika* Panč./Purkyně)

Научна област из које је стечено академско звање магистра наука/мастера: Семенарство, расадничарство и пошумљавање

III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

"Генетичко-физиолошка варијабилност смрче (*Picea abies* Karst.) у тестовима потомства у Босни и Херцеговини"

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација Бранислава Цвјетковића, мастер инжењера шумарства, садржи укупно 351 страну, од којих 271 страна текста, 30 страна литературних навода (272-301) и 50 страна прилога (302-351). На додатних 11 страна налазе се биографија и библиографија кандидата, као и изјаве о ауторству, истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и изјава о коришћењу.

На почетку докторске дисертације, налазе се кључне документационе информације, резиме на српском и енглеском језику са кључним речима, листа скраћеница, списак табела, графикона, слика, карата и шема. Докторска дисертација садржи 88 табела, 81 графикон, 24 слике, 4 карте и 5 шема.

Текст је подељен у 9 поглавља, која су структурирана тако да представљају посебне, али логички повезане целине:

1. УВОД

- 1.1. Преглед морфометријских истраживања варијабилности смрче
- 1.2. Преглед физиолошких истраживања
 - 1.2.1. Варијабилност отварања пулољака
 - 1.2.2. Фотосинтеза, стоматална проводљивост, транспирација и фотосинтетички пигменти
- 1.3. Преглед генетичких истраживања
- 1.4. Тестирање репродуктивног материјала смрче *ex-situ*
- 1.5. Значај тестирања варијабилности смрче у свјетлу климатских промјена и трансфера репродуктивног материјала

2. ПРЕДМЕТ ИСТРАЖИВАЊА

3. ЦИЉ И ОСНОВНЕ ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА

- 3.1. Циљ истраживања
- 3.2. Хипотезе

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА

- 4.1. Тест потомства у Дринићу
 - 4.1.1. Фитоценолошка припадност
 - 4.1.2. Педолошке карактеристике
 - 4.1.3. Орографске карактеристике
 - 4.1.4. Климатски параметри - температуре
 - 4.1.5. Климатски параметри - падавине
 - 4.1.6. Климатски параметри према коефицијентима климе
- 4.2. Тест потомства у Сребреници
 - 4.2.1. Фитоценолошка припадност
 - 4.2.2. Педолошке карактеристике
 - 4.2.3. Орографске карактеристике
 - 4.2.4. Климатски параметри - температуре
 - 4.2.5. Климатски параметри - падавине
 - 4.2.6. Климатски параметри према коефицијентима климе
- 4.3. Реализована истраживања у тестовима потомства
- 4.4. Анализа морфометријских параметара садница различитих блокова, популација и линија полусродника
 - 4.4.1. Преживљавање садница
- 4.5. Анализа физиолошких параметара садница различитих блокова, популација и линија полусродника
 - 4.5.1. Динамика отварања пупољака
 - 4.5.2. Мјерење фотосинтезе, транспирације и стоматалне проводљивости
 - 4.5.3. Анализа садржаја фотосинтетичких пигмената
- 4.6. Генетичка карактеризација популација и линија полусродника примјеном pSSR молекуларних маркера
 - 4.6.1. Дефинисање величине узорка, прикупљање на терену и припрема за обраду
 - 4.6.2. ДНК изолација и PCR амплификација
- 4.7. Статистичка обрада података

5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА СА ДИСКУСИЈОМ

- 5.1. Варијабилност морфометријских параметара садница различитих блокова, популација и линија полусродника
 - 5.1.1. Варијабилност висина и пречника садница у коријеновом врату
 - 5.1.1.1. Варијабилност висина и пречника коријеновог врата у тесту потомства у Дринићу
 - 5.1.1.2. Варијабилност висина и пречника коријеновог врата у тесту потомства у Сребреници
 - 5.1.1.3. Однос висина и пречника коријеновог врата између тестова потомства
 - 5.1.2. Варијабилност прираста садница
 - 5.1.2.1. Висински прираст у тесту потомства у Дринићу
 - 5.1.2.2. Висински прираст у тесту потомства у Сребреници
 - 5.1.2.3. Однос прираста између тестова потомства
 - 5.1.3. Преживљавање садница у тестовима потомства
 - 5.1.3.1. Преживљавање садница у тесту потомства у Дринићу

- 5.1.3.2. Преживљавање садница у тесту потомства у Сребреници
- 5.1.4. Варијабилност броја грана
 - 5.1.4.1. Варијабилност броја грана у тесту потомства у Дринићу
 - 5.1.4.2. Варијабилност броја грана у тесту потомства у Сребреници
- 5.1.5. Анализа блискости популација и линија полусродника на основу преживљавања и морфометријских параметара (висине садница, прираста висина и пречника коријеновог врата и броја грана)
- 5.2. Варијабилност физиолошких параметара садница различитих блокова, популација и линија полусродника
 - 5.2.1. Резултати истраживања отварања пупољака
 - 5.2.1.1. Отварање пупољака у тесту потомства у Дринићу
 - 5.2.1.2. Отварање пупољака у тесту потомства у Сребреници
 - 5.2.1.3. Модели за процјену отварања пупољака
 - 5.2.1.4. Анализа утицаја времена отварања пупољака у тестовима потомства на преживљавање и раст садница
 - 5.2.2. Варијабилност вриједности фотосинтезе, транспирације и стоматалне проводљивости
 - 5.2.2.1. Варијабилност вриједности фотосинтезе, транспирације и стоматалне проводљивости у тесту потомства у Дринићу
 - 5.2.2.2. Варијабилност вриједности фотосинтезе, транспирације и стоматалне проводљивости у тесту потомства у Сребреници
 - 5.2.3. Варијабилност садржаја пигмената
 - 5.2.3.1. Варијабилност садржаја пигмената у тесту потомства у Дринићу
 - 5.2.3.2. Варијабилност садржаја пигмената у тесту потомства у Сребреници
 - 5.2.4. Анализа блискости популација у односу на посматране физиолошке параметре
- 5.3. Генетичка варијабилност популација и линија полусродника
 - 5.3.1. Алелна варијабилност
 - 5.3.2. Генетичка варијабилност популација
 - 5.3.3. Процјена генетичке структуре популација примјеном *Structure* програмског пакета

6. ЗАКЉУЧНА РАЗМАТРАЊА

7. ЗАКЉУЧЦИ

8. ЛИТЕРАТУРА

9. ПРИЛОЗИ

Дисертација је написана латиничним писмом, у складу са Упутством за обликовање докторске дисертације Универзитета у Београду.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У поглављу **1. УВОД** (1-48 стр.), кандидат наводи да смрча представља једну од најважнијих врста четинара у Босни и Херцеговини. У последњих неколико деценија улажу се значајни напори на унапређењу производње шумског репродуктивног материјала ове врсте. Издвојен је већи број семенских састојина и интензивирана је производња семена и садног материјала који се дистрибуира

на различите локалитете. Оно што је мање познато је интеракција садног материјала и конкретних станишних услова. Због тога су основани тестови потомства смрче у оквиру којих су спроведена истраживања за ову докторску дисертацију.

Такође, у овом поглављу кандидат даје детаљан преглед: морфометријских истраживања варијабилности смрче; физиолошких истраживања; истраживања варијабилности отварања пупољака, истраживања везаних за фотосинтезу, стоматалну проводљивост, транспирацију и фотосинтетичке пигменте; генетичких истраживања и истраживања везаних за тестирање репродуктивног материјала смрче *ex-situ*.

У поглављу **2. ПРЕДМЕТ ИСТРАЖИВАЊА** (49-50) кандидат наводи да је према Првој инвентури шума на великим површинама у Босни и Херцеговини спроведеној у периоду 1964-1968. године, удео смрче у шумама око 21% или преко 600.000 ha (Матић et al., 1971) са тенденцијом раста кроз подизање шума смрче. Према Другој инвентури шума на великим површинама, са просечном запремином од $310 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$ и годишњим запреминским прирастом од $7,91 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$, смрча представља једну од три најзначајније економске врсте за шумарство у Босни и Херцеговини (Лојо и Балић, 2011). Смрча се ретко јавља сама као едификатор, најчешће се сусреће у заједницама са јелом и буквом и јелом. Генерално, услед неповољних абиотичких и биотичких утицаја, кандидат истиче да постоји тренд смањења површине под смрчом, а врста се сматра и биолошки слабијом у односу на друге врсте са којима гради заједнице (Пинтарић, 2002). Кандидат наводи да, иако се природни ареал смањује, производни потенцијал је велик што се може видети у недирнутим прашумама: Перућица, Јањ и Лом, где смрча достиже импозантне димензије (Маунага et al., 2005, Керен et al., 2014).

Кандидат наводи да су иницијални кораци на истраживању варијабилности и адаптивних карактеристика смрче кроз тестирање домаћих популација начињени током 2005. године, када су издвојени семенски објекти у Републици Српској и сачињен први детаљан Регистар шумских семенских објеката (Матаруга et al., 2005), а затим кроз реализацију пројекта Министарства пољопривреде, шумарства и водопривреде Републике Српске, под насловом „Оснивање семенских плантажа смрче“, покренут је програм одабира полазних популација и индивидуа за тестирање и касније подизање семенских плантажа смрче прве генерације.

Током 2005. године изабрано је по 10 стабала из 6 природних популација смрче: Хан Пијесак 1 (локалитет „Кусаче“), Хан Пијесак 2 (локалитет „Пјеновац“), Фоча, Потоци, Олово и Кнежево, које репрезентују типична станишта смрче у БиХ, из свих еколошко-вегетацијских области. Сакупљене су шишарице, семе је дорађено, произведене су саднице и пресађене на терен током 2009. године, чиме су основани први тестови потомства смрче у Босни и Херцеговини (Матаруга et al., 2010). Тестови потомства се састоје од одабраних 36 линија полусродника из 6 напред наведених популација.

Кандидат истиче да су истраживања варијабилности особина у новооснованим тестовима потомства на нивоу генома, физиолошких и морфолошких параметара, основа за даљи рад на оплемењивању истраживане врсте у циљу постизања максималних економских, еколошких, социјалних

циљева, као и прикупљања података о адаптивбилности појединих популација и генотипова.

У поглављу **3. ЦИЉ И ОСНОВНЕ ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА** (51-52 стр.) кандидат наводи неколико циљева истраживања варијабилности смрче у тестовима потомства у Босни и Херцеговини:

1. Истражити варијабилност морфометријских параметара, уз евиденцију преживљавања садница као последицу интеракције генома и услова спољашње средине као два основна фактора при дефинисању избора полазног материјала;
2. Утврдити динамику отварања пупољака на садницама на нивоу тестова потомства, блокова, популација и линија полусродника;
3. Истражити варијабилност физиолошких параметара на нивоу одабраних линија полусродника који су репрезенти популација које су предмет истраживања;
4. Утврдити генетичку варијабилност коришћењем неутралних *n*SSR молекуларних маркера на нивоу популација и линија полусродника.

Имајући у виду све напред наведено, кандидат као примарни циљ наводи утврђивање корелације између добијених резултата и њихову синтезу за појединачне параметре истраживања, а у сврху извођења закључака о варијабилности генетичких, физиолошких и морфолошких параметара и њиховој повезаности, што представља добар предуслов за оплемењивачки рад и ефикасан трансфер репродуктивног материјала смрче на нова станишта.

На основу прегледа ранијих истраживања, доступних референци и познатих чињеница везаним за полазне популације смрче и географској и просторној организацији тестова потомства смрче у БиХ, као и предмета истраживања, кандидат је пошао од следећих хипотеза:

1. Постоји задовољавајући степен варијабилности морфолошких параметара различитих провенијенција (популација) смрче које су у тестовима потомства заступљене кроз линије полусродника;
2. Постоји задовољавајући степен варијабилности физиолошких параметара различитих провенијенција (популација) смрче које су у тестовима потомства заступљене кроз линије полусродника;
3. Постоји задовољавајући степен генетичке варијабилности, која се може утврдити применом молекуларних маркера, између различитих провенијенција (популација) смрче које су у тестовима потомства заступљене кроз линије полусродника;
4. Постоји међузависност преживљавања садница, морфометријских и физиолошких параметара као и генетичке дистанце међу популацијама и линијама полусродника;
5. Смрча различито реагује на утицаје спољашње средине након трансфера на нова станишта те ће се, на основу добијених резултата, моћи дефинисати адекватни обрасци трансфера репродуктивног материјала смрче и
6. Добијени резултати могу послужити као основа за будуће правце трансфера семена и садног материјала кроз оснивање нових шума у Босни и Херцеговини и региону, посебно уважавајући ефекат климатских промена.

У поглављу **4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА** (53-89), кандидат наводи да су истраживања у оквиру докторске дисертације спроведена у два теста потомства смрче у Босни и Херцеговини, који су основани на подручју Дринића и Сребренице. За сваки тест потомства приказана је фитоценолошка припадност, као и педолошке, орографске и климатске карактеристике сваког локалитета. Кандидат наводи да су истраживања генетичке варијабилности спроведена на нивоу тестова потомства, блокова (понављања) и линија полусродника применом морфолошких и физиолошких маркера, односно на нивоу популација и линија полусродника применом молекуларних маркера. Истраживања су спроведена у периоду 2013-2016. година. Кандидат, у овом поглављу даје шематски приказ истраживања, као и ходограм радова у тестовима потомства.

Анализа морфометријских параметара садница различитих блокова, популација и линија полусродника смрче обављена је у октобру 2014. године. Мерење је вршено на свим садницама у оба теста потомства. Мерене су висине садница и пречник кореновог врата. Висине су мерене мерном летвом са тачношћу од 1 cm. Пречници кореновог врата мерени су дигиталним помичним мерилом са тачношћу од 1 mm. Поред висина, мерене су висине последња три пршљена, што представља висине које су саднице достигале током 2013., 2012. и 2011. године. До података о висинским прирастима садница у 2012. и 2013. години дошло се мерењем растојања између пршљенова на садницама, док је за 2014. годину мерено растојање од последњег пршљена до врха саднице. Прираст пречника кореновог врата је одређен за период од две године, тј. као разлика измерених пречника у 2016. и 2014. години. Поступак мерења по истом принципу обављен је у септембру 2016. године са тим да су мерени пречник кореновог врата садница, висине садница и висине последњег пршљена, што представља висине које су саднице достигле у току 2015. године. Укупно су прикупљени подаци о висинама садница у шест сукцесивних година, у интервалу од 2011-2016. године, те пречници кореновог врата у 2014. и 2016. години. Приликом мерења 2016. године регистрован је број грана у последњем горњем пршљену садница. Поред мерења садница, на основу шеме садње, утврђен је број преживелих садница на терену.

Анализа физиолошких параметара садница различитих блокова, популација и линија полусродника смрче у тестовима потомства у Дринићу и Сребреници обухватила је: анализу динамике отварања пупољака; мерење фотосинтезе, транспирације и стоматалне проводљивости и анализу садржаја фотосинтетичких пигмената.

Отварање пупољака праћено је у три године: 2013, 2015. и 2016. године. Снимање стања отворености пупољака вршено је на свим садницама у оба теста потомства. У праћењу динамике отварања пупољака примењена је методологија коју даје Krutzsch (1973), а која предвиђа три стадијума пупољака: затворен пупољак; полуотворен пупољак и отворен пупољак. У спроведеним истраживањима извршена је модификација ове методологије, тако да нису регистровани полуотворени пупољци (тзв. "swollen buds") због теже оцене на самом терену степена отворености пупољака. Затворени пупољци у теренским обрасцима су означени бројем "0", а отворени бројем "1", те су подаци о

отворености пупољака пренешени у програм за обраду података.

Мерење фотосинтезе, транспирације и стоматалне проводљивости обављено је у оба теста потомства на садницама са исте стране света и на приближно истој висини и то:

- на 72 саднице у тесту потомства у Сребреници, на по две линије полусродника у оквиру сваке од шест популација, једна са најмањим вредностима морфометријских параметара и друга са највећим вредностима морфометријских параметара. Свака линија полусродника заступљена је са три саднице. Тестирање је обављено у два блока (други и четврти блок) који су репрезенти станишних услова теста потомства. Посматрано математички, број узорака добијен је на следећи начин: 3 саднице x 2 линије полусродника x 6 популација x 2 блока = 72 саднице по тесту потомства;

- на 48 садница у тесту потомства у Дринићу, на по две линије полусродника, у оквиру сваке од шест популација, једна са најмањим вредностима морфометријских параметара и друга са највећим вредностима морфометријских параметара. Свака линија полусродника заступљена је са две саднице. Тестирање је обављено у два блока (други и трећи) који су репрезенти станишних услова теста потомства. Посматрано математички, број узорака добијен је на следећи начин: 2 саднице x 2 линије полусродника x 6 популација x 2 блока = 48 садница по тесту потомства. Мерења су вршена уређајем LCpro+ са следећим задатим улазним параметрима: т – амбијентално, ц – амбијентално, е – амбијентално, а током мерења је вредност мењана према захтевима услова средине на 3, 6 и 9.

Одређивање површине четина, као главних носилаца физиолошких активности фотосинтезе, стоматалне проводљивости и транспирације, урађено је применом софтверског пакета *ImageJ* (Rasband, 2004) који има могућност одређивања површине фотографисаних објеката на основу дефинисања познате димензије на површини на којој се врши фотографисање.

Анализа садржаја пигмената урађена је у оба теста потомства и то на 72 саднице из сваког од њих. Две линије полусродника, у оквиру сваке од шест популација, једна са најмањим вредностима морфометријских параметара и друга са највећим вредностима морфометријских параметара, тестиране су за анализу варирања физиолошких параметара. Свака линија полусродника заступљена је са три саднице. Тестирање је обављено у два блока који су репрезенти станишних услова теста потомства. Посматрано математички, број узорака добијен је на следећи начин: 3 саднице x 2 линије полусродника x 6 популација x 2 блока = 72 саднице по тесту потомства. Узорци су узети са унапред обележених садница, са горњег пршљена, са западне стране. Припрема узорака и читавање на спектрофотометру обављено је по методу који су описали Ољача и Срдић (2005). За израчунавање концентрације пигмената у екстракту у $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ примењен је образац Holma (1954) и Wettsteina (1957).

Анализа варијабилности између и унутар популација применом молекуларних маркера спроведена је на узорку од по 10 садница из сваке од линија полусродника уграђених у тестове потомства. Из оба теста потомства укупно је узето 360 узорака за молекуларне анализе, односно 180 узорака по тесту потомства. Свака од 36 линија полусродника (од којих се састоје тестиране

популације) засуљена је са по 10 узорака и то са пет узорака из теста потомства у Дринићу и са пет узорака из теста потомства у Сребреници. Саднице су изабране на основу морфолошких анализа које су спроведене пре сакупљања материјала за анализе применом молекуларних маркера. По пет садница које су узимане из тестова потомства, одабране су тако што су вредности висина садница категорисане у пет категорија у односу на укупну висину садница измерених у току 2014. године: I група - 0% - 20% од укупне висине; II група - 20% - 40% од укупне висине, III група - 40% - 60% од укупне висине; IV група - 60% - 80% од укупне висине и V група - 80% - 100% од укупне висине.

Из сваке од категорија садница изабрана је по једна случајним узорком, те су исте саднице нађене на шеми на којој су и обележене. На терену су те саднице пронађене и са њих је узет узорак за анализе применом молекуларних маркера. Овакав метод избора садница на терену омогућио је обухват широког спектра садница из исте линије полусродника и популација у смислу разлика које су уочене у морфолошким параметрима.

Геномска DNA је изолована из осушених четина у количини од 0,3÷0,5 g по АТМАВ методу (Dumolin et al., 1995). За PCR реакцију коришћен је *Type-it Microsatellite PCR kit Qiagen*. Геномска DNA је квантификована са 20 нанограма, а фрагменти су били амплификовани PCR техникама користећи специфичне прајмере. DNA узорци били су амплификовани користећи полимеразу ланчану реакцију - PCR са специфичним прајмерима откривајући кодоминантне алеле за 11 полиморфних nDNA сите локуса.

Статистичка обрада података прикупљених на терену (димензије садница и праћење динамике отварања пупољака) и података добијених радом у лабораторији (физиолошки параметри) вршена је софтверским пакетима *Microsoft Excel* и *Statistica 13* (Statsoft, 2015). Резултати су представљени кроз дескриптивну статистику на нивоу тестова потомства, блокова, популација и линија полусродника. Везе између посматраних обележја су подвргнуте регресионој анализи, док су разлике по посматраним обележјима израчунаване и приказиване кроз једнофакторијалне и двофакторијалне анализе варијансе, *post-hoc* Данкан тестове, дендрограме (Хаџивуковић, 1991) и применом каноничке дискриминанте.

Обрада података добијених применом молекуларних маркера вршена је следећим софтверским програмима:

- *GenAlex ver. 6.501* (Peakall i Smouse, 2005) за рачунање просечног броја алела по локусу (N_a), броја јединствених алела (A_p), броја ефективних алела (N_e), уочене (H_o) и очекиване хетерозиготности (H_e) и фиксационог индекса (F);

- *Arliquin* (Excoffier i Lischer, 2010) за рачунање F_{ST} и значајности разлика као и за контролу података добијену обрадом података у *GenAlex-u*;

- *Micro-Checker 2.2.3*. (Van Oosterhout et al., 2004) за проверу присуства нултих алела;

- *PAST* (Hammer et al., 2001) за графичко приказивање удаљености популација на основу параметра F_{ST} , и проверу подударности података са резултатима *PoCA* анализе добијене обрадом података у *GenAlex-u ver. 6.501* (Peakall i Smouse, 2005);

- *F-STAT 2.9.3* (Goudet, 2001), за прорачун богатства алела ("allele

richnes”).

- *Structure ver. 2.3.4.* (Pritchard et al., 2010) за дефинисање броја “*genpool*”- ова из којих смрча уграђна у тестове потомства потиче, као и за анализу варијабилности на нивоу популација и линија полусродника графичким путем. *Structure* је софтвер који ради на принципу Бајесовог кластер метода. Најчешће се употребљава за анализе генетичке структуре популација. За потребе истраживања, дужина “*burn-in*” периода је подешена на 10000 итерација. Markov chain Monte Carlo (MCMC) број понављања, након *burn-in* периода, подешен је 10.000. Употребљен је “*admixture ancestry*” модел у комбинацији са “*correlated allele frequency*” моделом. *K* вредност је подешена на 1-12. За сваку *K* вредност број независних репликација био је 20. Анализа је укључивала и информације о припадности индивида одређеној популацији. Остали параметри подешени по *default* вриједностима.

- *Structure harvester* (Earl i von Holdt, 2012), коришћен је за одређивање највероватнијег броја кластера (*K*) у испитиваном сету података. Примењена су два ад хоц метода: ΔK метод (Evanno et al., 2005) који је базиран на стопи промене између две *K* вредности и метод по Pritchard et al. (2010), базиран на одређивању ΔK вредности према $\ln P(D)$ вредностима (*log probability of data*).

У поглављу **5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА СА ДИСКУСИЈОМ** (90-259), кандидат логичним редоследом, прегледно и систематично, кроз текст, табеле и графиконе, износи резултате својих истраживања који се односе на:

- варијабилност морфометријских параметара садница различитих блокова, популација и линија полусродника;

- варијабилност физиолошких параметара садница различитих блокова, популација и линија полусродника и

- генетичку варијабилност популација и линија полусродника применом молекуларних маркера.

У поглављу **6. ЗАКЉУЧНА РАЗМАТРАЊА** (260-267), кандидат прави рекапитулацију спроведених истраживања и наводи да су истраживања варијабилности морфолошких, физиолошких и генетичких карактеристика смрче, као и њеног преживљавања у тестовима потомства у Босни и Херцеговини, обављена у циљу дефинисања степена варијабилитета смрче из шест најквалитетнијих популација. Приказани резултати су базирани на четворогодишњем праћењу стања и мерењима морфометријских и физиолошких параметара, као и анализе варијабилности базиране на молекуларним маркерима у два теста потомства у Босни и Херцеговини.

Кандидат истиче да је истраживање обухватило стање садница са више аспеката у два теста потомства: тесту потомства у Дринићу и тесту потомства у Сребреници, који су основани 2009. године садним материјалом типа 2+1n (трогодишњи садни материјал који је трећу годину провео у Нисула ролнама). Тестови потомства су подигнути на два локалитета, један на западу Босне и Херцеговине (тест потомства у Дринићу) и један на истоку (тест потомства у Сребреници). Услови у тестовима потомства се разликују по орографским, климатским и педолошким условима. Тестирано је потомство пет популација које

су уједно и семенски објекти: Хан Пијесак 1 (локални назив „Кусаче”), Хан Пијесак 2 (локални назив „Пјеновац”), Фоча, Потоци и Кнежево, те потомство једне популације која није семенски објекат – популације Олово. То укупно чини шест популација које су биле тестиране у тестовима потомства. Поред тестирања на нивоу популација, тестирања су обављена и на нивоу линија полусродника.

У овом поглављу кандидат елаборира резултате до којих је дошао на различитим нивоима истраживања.

У поглављу **7. ЗАКЉУЧЦИ** (268-271), кандидат износи јасне закључке до којих је дошао на основу четворогодишњег истраживања смрче, у периоду од 2013-2016. године, у два теста потомства у Босни и Херцеговини: Дринићу и Сребреници. Закључци су детаљно приказани у делу VI овог Извештаја.

Поглавље **8. ЛИТЕРАТУРА** (272-301) садржи релевантне и актуелне референце, усмерене на истраживачку проблематику. Кандидат наводи 389 референци, које је користио приликом писања докторске дисертације, од којих је и један број аутоцитата, који се односе на проблематику која је обрађена у докторској дисертацији. Референце су доследно презентоване у предвиђеном формату.

У поглављу **9. ПРИЛОЗИ** (302-351), дати су табеларни и графички прикази, слике, као и други прилози, структурирани у складу са материјом изложеном у претходним поглављима.

Комисија констатује да садржај наведених поглавља има логичан след, који чини једну целину, која је писана јасним и прецизним језиком.

VI ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу истраживања, која су спроведена у оквиру ове докторске дисертације, кандидат закључује следеће:

1. Постоји значајна варијабилност у погледу висина и пречника кореновог врата садница смрче на нивоу тестова потомства, што указује на чињеницу да различити еколошки услови станишта утичу на раст и развој смрче у јувенилној фази;

2. Може се условно рећи да постоје “универзалне” популације које показују добре резултате на тестираним стаништима, тј. одликују се добрим квантитативним карактеристикама, што је случај са потомством из семенске састојине „Вршак-Увала” у Потоцима. Потомство наведене популације показало је супериорност у расту у оба теста потомства;

3. Преживљавање садница је мало у оба теста потомства, али је изражена варијабилност током посматраних година на нивоу популација и на нивоу линија полусродника. Резултати добијени за преживљавање садница у тестовима потомства указују да постоје значајне разлике у преживљавању садница нивоу популација и линија полусродника;

4. Истраживање потврђује сличност смрче из Босне и Херцеговине са смрчом у другим европским истраживањима провенијеничних тестова (Pascalaj et al., 2002; Vudenu et al., 2010) у погледу варијабилности корелације преживљавања смрче и раста. Преживљавање смрче и раст су варијабилни и нису

међусобно у корелацији;

5. Није могуће утврдити јасну везу између географског распореда полазних популација и резултата добијених истраживањима;

6. Број грана је под јаком генетичком контролом. Нису утврђене статистички значајне разлике на нивоима тестова потомства и блокова. Просечан број грана се креће око 5, а највише грана је забележено код популације Фоча;

7. Отварање пупољака се показало као врло варијабилна особина, поготово на нивоу линија полусродника. Издваја се популација Кнежево као популација чије потомство је у оба теста, и у Дринићу и у Сребреници, најраније почињало са отварањем пупољака. Популација Хан Пијесак 2 је била популација која је најкасније почела са отварањем пупољака. Издваја се линија полусродника K2 која је далеко најраније отварала пупољке у односу на све остале линије полусродника;

8. Резултати мерења нето фотосинтезе, транспирације и стоматалне проводљивости нису указали на значајније диференцирање потомства популација. Диференцирање је уочено само у тесту потомства у Дринићу за обележја “нето фотосинтеза” и “транспирација”. Такође, истраживање садржаја пигмената није показало резултате чије разлике би биле статистички значајне;

9. Генетичка варијабилност смрче је релативно мала услед великог протока гена међу популацијама и износи $F_{ST} = 0,017$ што указује на малу диференцијацију смрче унутар ареала. Иако је ареал смрче дисјунктан, постоји изражен трансфер гена међу популацијама, а у прилог томе говори и податак о великом броју миграната. Обзиром на сличност резултата генетичке диференцијације популација са подацима из Европе, може се констатовати да потомство смрче у тестовима потомства у Босни и Херцеговини није изгубило пуно од свог диверзитета, имајући у виду да је прошло процес селекције при одабиру популација и материнских стабала;

10. На основу резултата генетичких анализа, може се рећи да потомство смрче у тестовима потомства у Босни и Херцеговини потиче из пет “genpool”-ова. То је, као што је раније наведено, последица несметаног протока гена смрче у Босни и Херцеговини;

11. Појава приватних алела указује на чињеницу да постоје специфични алели, иако је проток гена неометан и вредност F_{ST} мала и да појаву таквих алела треба узети у разматрање при трансферу шумског репродуктивног материјала и при даљем оплемењивању смрче у тестовима потомства;

12. Узимајући сумарно у обзир све резултате добијене истраживањем потомства смрче у два теста: Дринићу и Сребреници, може се утврдити да је смрча показала боље резултате у тесту потомства у Сребреници него у Дринићу. Тест потомства у Сребреници се налази у појасу смрчевих шума те је потомство смрче на том локалитету ближе свом оптимуму него што је то случај са смрчом у тесту потомства у Дринићу. На то указују шумске заједнице које се налазе у окружењу тестова потомства. Тест потомства у Сребреници окружен је шумом смрче са једне стране и букве са друге. У шумама које окружују тест потомства у Дринићу доминира буква врло доброг квалитета уз јелу. Стога, при трансферу

репродуктивног материјала смрче, треба проучити услове средине у коју се уноси, који извор полазног материјала ће дати потомства (саднице) које ће постићи најбоље резултате у новом засаду, тј. да ли њен потенцијал може да буде адекватно искориштен;

13. Резултати истраживања могу да буду апликативни и у науци и у пракси. У пракси би се резултати могли користити у сврху дефинисања потенцијала извора репродуктивног материјала, те праваца трансфера репродуктивног материјала на нова станишта. Са научног аспекта, даље активности у раду са смрчом у тестовима потомства треба усмерити на селекцију линија полусродника које имају висок проценат преживљавања и на линије полусродника које се одликују добрим растом. Једна од опција је њихово укрштање, те даље праћење потомства у очекивању позитивног хетерозиса. Друга опција је сакупљање вегетативног репродуктивног материјала са линија полусродника пожељних особина, те вегетативна пропација у циљу подизања клонске семенске плантаже;

14. Сви добијени резултати добијени су у јувенилној фази раста и развоја смрче. Да би се могла анализирати адаптивност смрче и добити резултати на којима би се могли базирати дугорочни планови трансфера репродуктивног материјала смрче, неопходно је наставити мерења морфолошких параметара садница и пратити физиолошке параметре у два теста потомства, те у компарацији са добијеним резултатима у овом раду, правити будуће планове за рад са смрчом у БиХ. Будући планови треба да се односе на подизање *ex-situ* засада смрче, али и јасније дефинисање *in-situ* мера заштите генфонда смрче.

Комисија констатује да су закључци, до којих је кандидат дошао, формулисани прецизно и презентовани прегледно, да су утемељени на резултатима до којих је дошао самостално током спроведених истраживања и представљају оригиналан допринос науци и струци.

VII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Резултати, до којих је кандидат дошао у току својих истраживања, презентовани су на 170 страна куцаног текста, логичним редоследом, прегледно и систематично, са 71 табелом, 73 графикона и једном сликом.

У табелама је приказано следеће:

- морфометријске карактеристике садница (висина, пречник кореновог врата на нивоу: блокова, популација и линија полусродника),
- преживљавање садница на нивоу: блокова, популација и линија полусродника,
- резултати регресионе анализе односа висина и пречника кореновог врата за 2014. и 2016. годину када су мерени наведени параметри,
- резултати једнофакторијане и двофакторијалне анализе варијансе за сва посматрана обележја (морфометријске карактеристике садница, преживљавање садница, динамика отварања пупољака, број грана у пршљену, садржај пигмената, као и нето фотосинтезе, транспирације и стоматалне проводљивости)

- тестови значајности канонијских оса код дискриминантне анализе, као и стандардизовани коефицијенти,
- процена почетка отварања пупољака на основу временског интервала,
- процена почетка отварања пупољака на основу суме температура,
- алелне фреквенције по популацијама,
- број алела по генском локусу на нивоу популација,
- „богатство алела“ по локусима и популацијама,
- јединствени алели по популацијама,
- резултати анализе утврђивања присуства нултих алела на нивоу популација и линија полусродника,
- средње вредности параметара генетичке варијабилности по популацијама,
- средње вредности параметара генетичке варијабилности по локусима,
- F-статистика и утврђивање степена генетичке диференцијације,
- генетичка дистанца међу тестираним популацијама,
- резултати анализе молекуларне варијансе (AMOVA),

На графиконима су представљени:

- дендрограми кластер анализе, урађени на основу морфолошких карактеристика (висине, пречника кореновог врата и висинског прираста садница као и прираста кореновог врата) на нивоу популација и линија полусродника,
- корелације висине и пречника кореновог врата у 2014. и 2016. години,
- дистрибуција линија полусродника унутар популација за потребе дискриминантне анализе на основу посматраних обележја за оба теста потомства и за посматране године (2014. и 2016. годину)
- дендрограми кластер анализе, урађени на основу анализираних физиолошких својстава,
- функције раста садница у тестовима потомства
- преживљавање садница у тестовима потомства на нивоу тестова потомства, популација и линија полусродника у периоду 2013-2016. год.
- динамика отварања пупољака на нивоу тестова потомства, популација и линија полусродника за три године праћења огледа,
- односи опстанка садница и отворености пупољака на нивоу популација и линија полусродника у два теста потомства,
- распоред падавина у тестовима потомства,
- распоред популација на основу података добијених анализама молекуларних маркера,
- варијабилност унутар и између популација смрче у тестовима потомства (AMOVA),
- кластер анализа добијена обрадом података софтвером „Structure“,
- „Principal coordinates“ анализе за линије полусродника,

На слици је приказана варијабилност у динамици отварања пупољака више линија полусродника.

Начин приказивања добијених резултата се може окарактеристи као савремен, прегледан и илустративан. У ово поглавље укључена је и дискусија у

којој кандидат коментарише приказане резултате.

Комисија констатује да су приказани резултати правилно протумачени и адекватно компарирани са резултатима досадашњих истраживања других аутора.

VIII КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу напред изнетог, Комисија констатује да су истраживања методолошки и обимом у потпуности обављена у складу са пријављеном темом, за коју је Веће Научних области Биотехничких наука, Универзитета у Београду дало сагласност (Одлука број 61206-5489/2-15, од 16.12.2015. године). Недостаци докторске дисертације, који су могли утицати на резултате истраживања, нису уочени.

Дисертација садржи све битне елементе: насловну страну на српском и енглеском језику, информације о ментору и члановима комисије, изјаву захвалности, кључне документационе информације на српском и енглеском језику, резиме на српском и енглеском језику, садржај, листу скраћеница, списак тебела, графикана, слика, карата и шема, текст рада по поглављима, литературу, биографију и библиографију аутора, изјаву о ауторству, изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и изјаву о коришћењу.

На основу детаљне анализе свих поглавља израђене докторске дисертације кандидата мастер инжењера Бранислава Цвјетковића, Комисија закључује да докторска дисертација представља оригиналан и самосталан научно-истраживачки рад и да резултати, поред научне вредности, имају и практичну применљивост. Истраживања спроведена у оквиру ове докторске дисертације представљају значајан допринос упознавању генетичко-физиолошке варијабилност смрче (*Picea abies* Karst.) у тестовима потомства у Босни и Херцеговини. Истраживања су спроведена у два теста потомства (Дринић и Сребреница) у којима је тестирано укупно шест популација смрче: Хан Пијесак 1, Хан Пијесак 2, Фоча, Потоци, Олово и Кнежево. Добијени резултати показују да постоји висок ниво варијабилности међу анализираним популацијама и линијама полусродника, у погледу свих анализираних морфолошких и физиолошких параметара. Процена варијабилности, применом молекуларних маркера указују на мали степен генетичког диверзитета (F_{ST}) што је одлика врсте на целом природном ареалу. Такође, резултати показују да постоје популације са надпросечним вредностима анализираних параметара. Разлике у динамици отварања пупољака су значајне и упућују на опрез при трансферу шумског репродуктивног материјала на нова станишта. Такође, кандидат констатује да постоје и “универзалне” популације, које се одликују ширим спектром пожељних карактеристика, те су погодне за трансфер на шири дијапазон станишта.

Дефинисана тема, постављени циљеви, одабрана методологија и добијени резултати, уз јасне смернице за даљи рад, представљају значајан допринос унапређењу производње шумског репродуктивног материјала смрче и оплемењивању истраживане врсте у циљу постизања максималних економских, еколошких, социјалних циљева, као и прикупљања података о адаптивности појединих популација и генотипова.

Имајући у виду да се, као услов за одбрану докторске дисертације, поставља објављен рад у часопису међународног значаја, Комисија констатује да

је кандидат овај услов испунио. Кандидат је коаутор осам радова у часописима међународног значаја, категорије M23, M22 и/или M21, који се баве тематиком из уже научне области, при чему је у једном раду, објављеном у часопису категорије M23 (*Genetika*), предмет истраживања била генетичка варијабилност смрче, која представља предмет истраживања у докторској дисертацији. Рад је наведен у оквиру прегледа досадашњих истраживања, а резултати су употребљени у дискусији докторске дисертације. Радови су наведени у библиографији кандидата, која је саставни део докторске дисертације.

IX ПРЕДЛОГ

На основу начињеног извештаја и изнете оцене докторске дисертације, Комисија сматра да је докторска дисертација мастер инжењера Бранислава Цвјетковића, методски успешно обрађена и да третира актуелну материју на нивоу неопходном карактеру рада.

Полазећи од свих наведених чињеница, Комисија предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Шумарског факултета да докторску дисертацију кандидата мастер инжењера шумарства Бранислава Цвјетковића под насловом "Генетичко-физиолошка варијабилност смрче (*Picea abies* Karst.) у тестовима потомства у Босни и Херцеговини" прихвати за јавну одбрану, ради стицања научног степена доктора биотехничких наука.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

др Мирјана Шијачић-Николић, редовни професор
Универзитета у Београду - Шумарског факултета

др Милан Матаруга, редовни професор
Универзитета у Бањој Луци - Шумарског факултета

др Драгица Вилотић, редовни професор
Универзитета у Београду - Шумарског факултета

др Владан Иветић, ванредни професор
Универзитета у Београду - Шумарског факултета

др Саша Орловић, научни саветник Института за
низијско шумарство и животну средину Нови Сад

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова Комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.