

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

Број:

Датум: 31. 07. 2020.

Београд

Предмет: Извештај Комисије о оцени урађене докторске дисертације Александра Поповића, маг. инж. пољ.

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду бр. 32/17-8.7. од 24.06.2020. године, именовани смо у Комисију за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата **Александра Поповића, маг. инж. пољ.**, под насловом: **"Оцена оплемењивачке вредности и молекуларна карактеризација локалних популација кукуруза Западног Балкана"**.

Комисија у саставу: др Славен Продановић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду (ментор 1), др Војка Бабић, виши научни сарадник Института за кукуруз „Земун Поље” (ментор 2), др Томислав Живановић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Наталија Кравић, виши научни сарадник Института за кукуруз „Земун Поље” и др Данијела Ристић, виши научни сарадник Института за кукуруз „Земун Поље”, на основу прегледа докторске дисертације, подноси Наставно-научном већу Пољопривредног факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација маг. инж. пољ. Александра Поповића, написана је на укупно 142 странице текста у оквиру којих је 56 табела, 60 графикона и 18 слика и оригиналних фотографија. У докторској дисертацији цитирано је 268 извора литературе.

Докторска дисертација испред основног текста садржи: Насловну страну на српском, енглеском и руском језику, Информације о менторима и члановима комисије, Захвалницу, Сажетак са кључним речима на српском, енглеском и руском језику и Садржај. Докторска дисертација подељена је на 9 основних поглавља и то: I – Увод (стр. 1-2), II – Циљ истраживања (стр. 3-4), III – Преглед литературе (стр. 5-22), IV – Радна хипотеза (стр. 23-24), V – Материјал и методе (стр. 25-48), VI – Резултати истраживања (стр. 49-116), VII – Дискусија резултата (117-130), VIII – Закључак (131-132) и IX – Литература (133-142). 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. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

I – Увод. У овом поглављу кандидат указује на опасност од континуираног сужења диверзитета гермплазме кукуруза која се користи у савременим оплемењивачким програмима стварања нових F_1 хибрида. Решење овог проблема налази се у интрогресији нове гермплазме у већ постојеће хетеротичне групе. У ген банкама постоји значајан број локалних популација кукуруза, али се такав материјал мало уноси и искоришћава у комерцијалним програмима

оплемењивања. Из тог разлога, посебан значај имају предоплемењивачки процеси чији је циљ проналажење и идентификација популација са пожељним својствима (генима) и њихово унапређење до нивоа на којем се могу инкорпорирати у комерцијални програм. Ради се о дугорочним истраживањима која се обављају кроз вишефазни процес евалуације и одабира почетног материјала (стратификацијски одабир). При томе је неопходно, с једне стране, да се континуирано смањује обим гермплазме са којом се ради, а са друге стране, да се обухвати што је могуће већа варијабилност укупног ген-пула.

II – Циљ истраживања. Основни циљ ових истраживања је да се на основу тест укрштања оцени општа комбинациона способност (ОКС) локалних популација кукуруза из ген банке Института за кукуруз „Земун Поље”, како би се идентификовале популације које су најбољи општи комбинатори, пре свега за принос зрна, а онда и за остале особине од значаја у оплемењивању кукуруза. Поред оцене општих комбинационих способности, циљ је да се идентификују популације са најбољим посебним комбинационим способностима (ПКС) за принос зрна у укрштањима са три дивергентна тестера. Укрштање популација са тестерима указује на хибридне комбинације са високим хетеротичним ефектом, што омогућава формирање хетеротичних група локалних популација. Такође, један од циљева истраживања је да се применом *SSR* маркера, изврши и молекуларна карактеризација одабраних локалних популација и тестера и израчунају коефицијенти генетичке сличности/дивергентности, како између испитиваних популација, тако и у односу на коришћене тестере, односно да се процени генетички диверзитет испитиваног материјала. Упоређујући резултате о фенотипским вредностима хибрида из пољских огледа и молекуларне карактеризације родитељских генотипова, кандидат жели да утврди да ли коефицијенти генетичке сличности/дивергентности могу бити поуздани индикатори хетерозиса. На крају, кандидат истиче да се на основу добијених резултата може омогућити интрогресија гермплазме локалних популација у комерцијални оплемењивачки програм, водећи рачуна да се сачува дивергентност хетеротичних група, како би се максимизирао ефекат хетерозиса. Свеобухватни циљ је да унос гена из локалних популација у постојећи материјал буде плански изведен, који би допринео стварању нових инбред линија и F_1 хибрида кукуруза.

III – Преглед литературе. Кандидат је у овом поглављу приказао 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 шест потпоглавља: 3.1. Употреба и привредни значај кукуруза, 3.2. Фундаменталне чињенице о кукурузу, 3.3. Чување генетичке варијабилности, 3.4. Предоплемењивање – концепт ефикасног коришћења генетичких ресурса, 3.5. Различити приступи у проучавању гермплазме кукуруза и 3.6. Хетерозис – феномен повећања приноса.

У потпоглављу 3.1. кандидат описује општи значај кукуруза, његову употребу и привредну вредност, посматрајући кукуруз кроз историјску призму до данашњих дана. На основу статистичких показатеља просечних површина под кукурузом, као и просечних приноса кукуруза у протеклих 10 година, истакнут је допринос и значај рада на оплемењивању ове биљне врсте.

У потпоглављу 3.2. кандидат износи фундаменталне чињенице о кукурузу, као што су порекло врсте, таксономска припадност, историјске чињенице о интродукцији кукуруза у Европу и на простор Западног Балкана. У овом поглављу наведени су радови, прва проучавања и класификација локалних популација у 18 агроеколошких група. У истом поглављу дат је осврт на значај генетичких истраживања на кукурузу (број гена кукуруза, хромозоми, геном кукуруза, итд.)

У потпоглављу 3.3. представљене су две главне стратегије у начину очувања генетичке варијабилности (*ex situ* и *in situ* конзервација). Прегледно су наведене различите институције

које се баве сакупљањем, одржавањем и чувањем генетичких ресурса различитих биљних врста. Кандидат истиче да локалне популације кукуруза имају кључну улогу у формирању агробиодиверзитета врсте. Наглашава значај њихове прилагођености специфичним локалним условима, као и њихову разноликост унутар популације, што је од посебног интереса за постизање стабилности приноса у комплексним условима спољашње средине.

У потпоглављу 3.4. кандидат представља концепт предоплећења, као најефикаснијег и најперспективнијег начина коришћења генетичких ресурса кукуруза. Основни циљ предоплећења је формирање нових скупова (*pool*-ова) гена за потребе оплећењачких програма. Наводећи успешне оплећењачке програме и постигнуте резултате различитих пројеката, као што су *LAMP (Latin American Maize Project)*, *GEM (Germplasm Enhancement of Maize)* и *GENRES (Genetic Resources)*, кандидат истиче да су дуготрајни програми предоплећења показали најбоље резултате, а да је неопходна сарадња између приватних и јавних институција при њиховој реализацији. Значај локалних популација у комерцијалним програмима описан је примерима домаћих линија кукуруза (NS796, R70Ž, NS568 и ZPPE25-10-1) које су биле родитељске компоненте водећих хибрида створених у националним институтима, а настале су уз учешће гермплазме локалних популација. Павличић и Трифуновић (1966) су утврдили изванредно богатство варијабилности локалних типова тврдунаца, који су најраније интродуковани на просторе Западног Балкана. Кандидат сматра да једино добрим одабиром почетног материјала, који ће проћи кроз програм предоплећења, се може доћи до квалитетног почетног материјала у који ће се касније уложити селекциони рад који може дати вредне комерцијалне резултате. Према наводима Радовића (1980), један део генетичке варијабилности популација из група зубана које су као такве донете у наше крајеве, послужио је за добијање инбред линија које су се добро укрштале са елитним америчким популацијама (*Stiff Stalk Synthetic* и *Lancaster*); други део генетичке варијабилности популација односио се на групу раностасних тврдунаца која је искоришћена у селекцији за стварање линија и хибрида краће вегетације. Молекуларном анализом је утврђено да је само мали део богате генетичке основе, који је доступан у европским локалним популацијама, употребљен за стварање елитне гермплазме тврдунаца (Dubreuil и Charcosset, 1999). Делује обећавајуће уколико се поново истражи и оцени оплећењачки потенцијал локалних популација тврдунаца уз примену савремених метода и техника чиме ће се добити права слика њихове постојеће варијабилности и значаја за оплећењачке програме (Böhm, 2014). Идеалном популацијом која може постати почетни материјал, кандидат сматра ону која поседује висок просек особина, значајну генетичку варијабилност, широку адаптабилност, добру комбинациону способност и фреквенцију пожељних алела већу од 0,5. Дакле, предоплећењачки програми могу да створе нове почетне популације за оплећењачке програме и да помогну у добијању информација о њиховом хетеротичном потенцијалу.

У потпоглављу 3.5. образлажен је фенотипски и молекуларни приступ у истраживањима гермплазме кукуруза. Већи број аутора сматра да комбинација фенотипског и молекуларног приступа даје најпотпунију слику о испитиваном материјалу, иако често мерења фенотипских особина нису у сагласности са резултатима истраживања на молекуларном нивоу. Према Matus и Naies (2002), процена генетичке разноврсности може се извршити на основу неколико критеријума, као што су фенотип, педигре и коришћење молекуларних маркера. Један приступ не искључује други, а комбиновани приступ употпуњује и даје реалнију оцену оплећењачке вредности испитиваног материјала.

У потпоглављу 3.6. акценат је стављен на хетерозис, и то за најзначајнију и најцењенију особину код произвођача – принос зрна. Дат је је појам хетерозиса и објашњени су узроци хетерозиса кроз три најпопуларније хипотезе: хипотеза доминације, хипотеза супердоминације и хипотеза епистазе. Кандидат сматра да поред феномена хетерозиса, концепт комбинационих

способности и хетеротичних група има велики значај у проучавању и проналажењу комбинација које дају повећање приноса. Према Ивановић и сар. (1995), хетеротични потенцијал из саме домаће гермплазме није довољно истражен и искоришћен. Идентификација других хетеротичних модела (парова) треба да допринесе проширењу генетичке основе гермплазме која се користи у комерцијалне сврхе (Mungoma и Polak, 1988).

IV – Радна хипотеза. У овом поглављу наведене су основне претпоставке на којима се заснивају истраживања о оплећењивачкој вредности и молекуларној карактеризацији локалних популација кукуруза Западног Балкана. Очекује се да постоји значајна разлика између локалних популација, које су одабране за истраживања и чувају се у банци гена Института за кукуруз „Земун Поље“, у карактеристикама популација *per se*. Такође је за очекивати постојање значајне варијабилности приноса и других агрономских особина између популација, с обзиром да су оне колекционисане из различитих агроколошких услова и припадају дивергентним групама, на основу морфолошке карактеризације по *CYMMIT/IBPGR* дескриптору. Полазна хипотеза је да постоје значајне разлике у општој комбинационој способности између локалних популација, и да се могу издвојити најбољи општи комбинатори за различите особине од интереса, а пре свега за принос. Пошло се од претпоставке да је у истраживању обухваћена варијабилност комерцијалног ген-пула кукуруза одабиром три елитна тестера, који припадају дивергентним и најчешће коришћеним хетеротичним групама. За очекивати је да се на основу тест укрштања могу издвојити посебне хибридне комбинације које испољавају висок хетерозис за принос зрна и извршити груписање локалних популација у хетеротичне групе. Пошло се и од претпоставке да ће молекуларна карактеризација омогућити процену генетичке сличности и дивергенције одабраних локалних популација, како међусобно, тако и у односу на тестере познатог педигреа. Кандидат претпоставља да ће неки од примењених микросателитских маркера јасније од других омогућити разликовање локалних популација кукуруза. За очекивати је да ће локалне популације веће генетичке дивергентности испољити и виши степен хетерозиса. Кандидат претпоставља да ће комбиновање резултата добијених из пољских огледа и резултата молекуларне анализе при процени оплећењивачке вредности локалних популација, бити добра полазна основа за доношење поузданих одлука о начину коришћења испитиваног материјала у даљем програму предплећења и његовој интрогресији у комерцијални оплећењивачки материјал.

V – Материјал и методе. У почетку овог поглавља описан је биљни материјал, детаљно је приказан стратификацијски процес одабира популација кукуруза, делом извршен у претходним истраживањима, тако да се целокупна обимна колекција локалних популација са простора Западног Балкана систематски смањивала на прихватљив број за испитивање хетеротичног потенцијала. Потом, наводе се основни пасошки подаци и поједине морфолошке карактеристике испитиваног биљног материјала, укључујући три елитна тестера (L217, L73B013 и L255/75-5) различитих хетеротичних група (*Iowa Dent*, *BSSS* × *Iowa Dent* и *Lancaster*). Кандидат је одабране локалне популације током 2014. године укрштао са три поменута тестера добивши 93 *test cross* хибрида које је тестирао током 2015. и 2016. године на четири локације: Земун Поље, Панчево, Сремска Митровица и Бечеј. Оглед је био постављен у условима сувог ратарења, по парцијално уравнотеженом непотпуном блок дизајну (*PBIB – partially balanced incomplete block design*; Ghosh и Divecha, 1997). Површина елементарне парцеле износила је 7,5m², при чему је сваки хибрид посејан у два реда, а сваки блок је садржао по 24 хибрида. Кандидат описује примењене агротехничке мере и агрометеоролошке услове на огледним локалитетима током периода истраживања. Фенотипска карактеризација *test cross* хибрида обухватала је следеће морфолошке особине: висину биљке до врха метлице (cm), висину биљке до клипа (cm), дужину клипног листа (cm), ширину клипног листа (cm) и број листова изнад горњег клипа. Ове особине мерене су непосредно након фазе цветања, на узорку од 10 биљака

по хибриду на свим локалитетима у обе године испитивања. На основу мерених висина израчунат је однос висине биљке до клипа и висине биљке до врха метлице (%). Пред бербу избројан је укупан број, као и број полеглих и сломљених биљака, након чега је узорковано по десет насумично одабраних клипова сваког генотипа за мерење следећих особина: дужина клипа (cm), пречник клипа (cm), пречник окласка (cm), број редова зрна, број зрна у реду и маса 1000 семена (g). На основу разлике пречника клипа и окласка израчуната је дубина зрна. Исти узорци послужили су за дескрипцију следећих особина хибрида: боје врха зрна, типа зрна, облика клипа и интензитета антоцијанске обојености плевица окласка (по *UPOV – International Union for the Protection of Cultivated Varieties* дескриптору за кукуруз) и правости редова (по *SIMMYT/IBPGR* дескриптору за кукуруз). Берба огледа обављена је машински. Принос зрна мерен је по парцели. Након мерења и оцене морфолошких особина клипа на узорцима, који су узимани пре машинске беребе, они су окруњени, измерена је влага и тежина узорка после чега је прерачуната на 14% влаге, како би могла бити придружена тежини пожњевеног зрна са одговарајуће елементарне парцеле. Овај приступ је омогућио да се израчуна принос зрна (t/ha).

У другом делу овог поглавља кандидат наводи да је за молекуларну карактеризацију родитељских компоненти *test cross* хибрида применио *SSR* маркере. Изолација ДНК кукуруза је обављена према *CTAB (Cetyl-trimethyl ammonium bromide)* протоколу, модификованој методи Doyle и Doyle (1990). Изолација ДНК популација је рађена из групног узорка (30 зрна по популацији), док је за линије узето по пет зрна. Генетички диверзитет одабраног материјала кандидат је испитао применом 29 полиморфних микросателитских маркера изабраних на основу проучавања досадашњих литературних података и претходних истраживања о информативности појединих ДНК маркера код кукуруза. У питању су комерцијални прајмери *Metabion International*. Концентрација и квалитет изоловане ДНК одређена је на *Eppendorf Bio Spectrometer® kinetic* спектрофотометру. Измерена је апсорбација на таласним дужинама $\lambda=230$, $\lambda=260$ и $\lambda=280\text{nm}$. Ланчаном реакцијом полимеразе (*PCR*) по Edwards et al. (1991) амплификоване су микросателитске секвенце. Електрофоретско раздвајање извршено је након амплификације фрагмената. *PCR* продукти су раздвојени на 8% полиакриламидном гелу. *SSR* профили за сваки прајмер су очитани мерењем фреквенције алела, која је изражена као проценат индивидуалних трака унутар узорка.

Трећи део овог поглавља односи се на статистичку обраду података. Принос зрна и остале мерене фенотипске особине *test cross* хибрида обрађене су комбинованом двофакторијалном анализом варијансе *ANOVA (Analysis of Variance)* података добијених из *PBIB* блок дизајна (Ghosh и Divecha, 1997). При анализи варијансе комбинационих способности, спољашње средине и интеракција генотипа и спољашње средине узети су као рандом ефекти, док су ефекти тестера (оца) и популација (мајке) узети као фиксни ефекти. На основу израчунатих *F* вредности процењена је значајност различитих извора варијације унутар комбиноване *ANOVA*. За поређење средина ефеката мајке (популација) и оца (тестера) коришћен је *LSD* тест (тест најмање значајне разлике), на нивоу значајности $p \leq 0,05$. Анализа варијансе и одговарајући тестови рађени су у *MSTAT-C* програму. Применом наведених метода идентификоване су популације са најбољим општим комбинационим способностима (ОКС) за све испитиване особине. Процена облика повезаности особина популација *per se* и вредности њихових ОКС извршена је регресионом анализом. Одређене су посебне комбинационе способности (ПКС) за принос зрна, као својство од највећег интереса. Кандидат је издвојио перспективне *test cross* комбинације, које превазилазе референтну вредност од 75% приноса *F₁* хибрида насталих укрштањем између тестера (Radović и Jelovac, 1995). Овај проценат је вероватноћа, при укрштањима популације у еквилибријуму са хомозиготном линијом, да ће један локус имати хетерозиготне алеле (Hallauer et al., 2010). За одређивање фреквенције алела за сваки *SSR* маркер коришћен је *UN-SCAN-IT gel 6.1* програмски пакет. Генетичка сродност

између локалних популација и тестера, на основу генетичких дистанци и кластер анализа одређена је коришћењем *NTSYS* статистичког пакета верзија 2.1. Узимајући у обзир модел бесконачног алела (Kimura и Crow, 1964), кандидат истиче да је коефицијент дистанци по Nei-у (1972) погодан за проучавање филогенетских односа између популација јер се креће у опсегу од 0 до ∞. Израчунати су показатељи генетичке варијабилности: број полиморфних локуса, проценат полиморфних локуса, просечан број алела по локусу. Примењена је *UPGMA* (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) кластер анализа на основу матрица коефицијената сличности у циљу груписања генотипова на основу генетичких сличности и разлика, а обрада података извршена у *SAHN* програму (*eng. – sequential, agglomerative, hierarchical and nested clustering method*). Ова техника проузрокује мало дисторзије током поређења са почетном сличном матрицом, те обезбеђује више контраста унутар класификације. Како би се потпуније сагледале генетичке сличности испитиваних генотипова, кандидат је урадио коресподентну анализу на основу матрице генетичких сличности у *SPSS 20.0. for Windows Evaluation* програму. Иако ова анализа даје сличне резултате као и кластер анализа, она је информативнија у графичком представљању резултата.

VI – Резултати истраживања. У овом поглављу Александар Поповић је изложио целокупне резултате испитивања кроз пет потпоглавља: 6.1. Резултати анализе варијансе (*ANOVA*) квантитативних особина *test cross* хибрида, 6.2. Резултати анализе квалитативних (дескриптивних) особина *test cross* хибрида, 6.3. Резултати анализе *SSR* маркера, 6.4. Резултати кластер анализе и 6.5. Резултати коресподентне анализе.

У потпоглављу 6.1. има 14 делова, а сваки се односи на по једну испитивану особину. У оквиру сваког посебног дела изнети су подаци о анализи варијансе, статистичкој значајности појединих извора варијација и коефицијент варијације огледа за дату особину. Углавном мали коефицијенти варијације указивали су на малу унутаргрупну варијабилност *test cross* хибрида. Анализом ранга ефеката мајке и оца, уз примену *LSD* теста, представљене су испитиване локалне популације у форми ранга, чиме кандидат јасно истиче најбоље и најлошије опште комбинаторе за дату особину. На основу резултата регресионе вредности кандидат пореди вредности популације *per se* и ефекат популација у *test cross* хибридима за дату особину указујући на степен линеарне повезаности тих параметара. Затим кандидат износи значајност разлика ефеката оца (тестера) у *test cross* хибридима за дату особину, представљених у виду ранга. Посебне комбинационе способности приказане су графиком на којем се јасно уочава ефекат интеракције сваке локалне популације са сваким од тестера (интеракција мајка × отац) за дату особину. На основу линије тренда истакнут је однос локалне популације и тестера, али и самих тестера међусобно за дату особину. Ово потпоглавље кандидат завршава делом 6.1.14. Принос зрна, у којем детаљно износи резултате о посебној комбинационој способности за принос зрна испитиваних популација у укрштањима са сва три тестера. Добијен принос упоређен је са референтим приносом, који представља 75% просечног приноса *F₁* хибрида. Испитујући хетеротични ефекат на основу приноса кандидат је издвојио 17 локалних популација (МБ1945, МБ1509, МБ1450, МБ2006, МБ642, МБ1960, МБ1569, МБ1665, МБ877, МБ632, МБ1798, МБ773, МБ467, МБ2249, МБ288, МБ1346 и МБ1534) које су имале принос изнад референте вредности и представио графички као пресек три скупа, где сваки скуп представља хетеротичну групу. Популације које су се нашле у скуповима дају хетерозис са датим тестером. Оне популације које се налазе у пресецима скупова дале су хетерозис са оба тестера тј. са представницима две различите хетеротичне групе. Унутар пресека сва три скупа није се издвојила ниједна локална популација, односно ниједна од испитиваних популација није испољила хетеротични ефекат са сва три тестера, чиме би представљала неку нову хетеротичну групу.

У потпоглављу 6.2. има 5 делова, а сваки се односи на по једну испитивану квалитативну особину *test cross* хибрида (боја врха зрна, тип зрна, облик клипа, интензитет антоцијанског обојења плевица окласка – боја окласка и правост редова зрна на клипу). На прегледан начин дефинисане су категорије за дату особину, након чега су изнети резултати о процентуалном учешћу појединих категорија у односу на укупан број оцењиваних клипова. Такође, кандидат је приказао резултате фреквенције појављивања појединачних категорија по тестеру за дату особину, као и процентуално учешће потомства одређеног тестера у датим категоријама за дату особину. Прегледним графиконом за сваку квалитативну особину кандидат представља интеракцију локалних популација и тестера тј. фреквенција и процентуални удео појављивања у појединачним категоријама.

Потпоглавље 6.3. односи се на испитивање генетичког диверзитета локалних популација кукуруза које је урађено на међупопулацијском нивоу 31 испитиване популације, и у односу на тестере. Од коришћених 33 *SSR* прајмера, 29 је дало јасну слику, а четири прајмера је избачено из даље анализе услед мономорфности, односно потешкоћа у оптимизацији *PCR* амплификације и нејасних ДНК профила. Табеларно, приказане су карактеристике коришћених прајмера. Ради утврђивања генетичке варијабилности између проучаваних популација, као и између популација и тестера израчунати су коефицијенти генетичких дистанци. Вредности добијених генетичких дистанци и тестера су се кретале од 0,43 до 1,54, док је просечна вредност износила 1,01.

У потпоглављу 6.4. представљена је сродност пет тестера (инбред линија) и 31 локалне популације. Генетичке дистанце приказане су у форми дендрограма кластер анализе по *Nei*-у, применом *UPGMA* методе груписања. Кандидат на јасан начин образлаже добијене резултате кластер анализе, формиране групе подкластера као и разлоге засебног формирања појединих грана кластера.

У потпоглављу 6.5. изнети су резултати коресподентне анализе и дате информације како се на потпунији начин може сагледати генетичка сличност испитиваних генотипова локалних популација и тестера, а тиме и претпоставити могућа хетеротична припадност. Прве три димензије коресподентне анализе (D_1 , D_2 и D_3) обухватају 49,1%, 13,9% и 11,7% генетичке варијабилности, респективно. Резултати коресподентне анализе представљени су на 2D и 3D дијаграмима.

VII – Дискусија резултата. Након приказа резултата истраживања, кандидат их је детаљно анализирао, дискутовао и упоређивао са до сада објављеним резултатима у свету и код нас. У овом поглављу, ради прегледности, посебно су анализирани квантитативне особине, молекуларни маркери и квалитативне особине.

Кандидат истиче важност основних сазнања о генетичком потенцијалу основних/полазних популација, било да се односе на карактеристике популација *per se* или на рекомбинационе вредности популација у укрштањима, како би се оне могле успешно користити у програмима оплемењивања за стварање и унапређење нових сорти. Резултати различитих спољашњих средина показују да су ефекти локалних популација, инбред тестера, као и њихове интеракције (осим троструке интеракције спољашња средина \times тестер \times локална популација) били значајни за особину принос зрна и готово све остале посматране квантитативне особине. Ово указује да су велике унутархибридне разлике између *test cross* хибрида за одређене локалне популације резултирале сличним одговором кроз локације, а да су остали извори варијација били статистички значајни за све посматране особине (са пар изузетака). Дат је сумарни табеларни преглед нивоа значајности за средине квадрата и коефицијенте варијације анализираних особина *test cross* хибрида кукуруза. Коефицијенти варијације (CV) добијени у истраживањима углавном су имали мале вредности у распону од 5 до 10% за особине висина клипа, ширина листа, број листова изнад клипа, дужина листа, дубина зрна, број редова зрна, број зрна у реду и маса 1000 семена, док је за принос зрна коефицијент варијације износио

16.68%, а што је у складу са резултатима других истраживача. Анализирајући добијене резултате о разликама ефеката мајки (популација) у *test cross* хибридима, кандидат је издвојио најбоље и најлошије опште комбинаторе за принос зрна, као и за остале особине. Дискутујући резултате ОКС за принос зрна, кандидат истиче да су се локалне популације типа зубана (МБ1346, МБ197, МБ1569, МБ1509 и МБ2036) генерално боље комбиновале са одабраним тестерима у односу на популације тврдунаца. Сматра се да, временом настали јаз у приносу зрна кукуруза, између генетичких ресурса и елитног оплемењивачког материјала, ће се све више повећавати, због напретка селекције за ову особину, и то од 1 до 2% на годишњем нивоу. Утврђено је да локалне популације краће вегетације имају статистички значајно ниже вредности ОКС у односу на популације дуже вегетације, а што је у складу са другим објављеним радовима.

Кандидат истиче да би било идеално када би резултати молекуларних маркера били довољно поуздани приликом испитивања хетеротичне припадности, тако да испитивања у пољу не би била неопходна. Међутим, резултати указују да се ради о комплексном односу. Бројна истраживања указују да молекуларни приступ не сме да искључи пољска испитивања, и обрнуто. Када се упореде резултати ПКС добијени у пољу, са резултатима молекуларне анализе *SSR* маркерима, уочава се да у највећем броју случајева (са изузетком популације МБ1960) популације које су испољиле хетерозис са одређеним тестером имају опозитне вредности било прве, друге или треће димензије коресподентне анализе у односу на дати тестер. То значи да су популације генетички дивергентне. Међутим, бројне популације су, такође, на основу молекуларних маркера, показале дивергентност у односу на тестере, али у пољским огледима нису дале хетерозис. Кандидат закључује да се молекуларном анализом са великом поузданошћу може утврдити само са којим тестером дата популација неће дати хетерозис. Да би дошло до појаве хетерозиса у укрштањима популације са неким тестером неопходно је да постоји дивергентност између њих, али то није и једини потребан фактор, јер се поред веома корисних информација које се добијају молекуларним маркерима, пољски огледи и даље могу сматрати незаменљивим за потврду агрономске вредности новостворених хибридних комбинација.

Генетичка дивергентност коју поседују локалне популације кукуруза осликава се и у квалитативним особинама. Зато је кандидат у оквиру докторске дисертације анализирао и пет квалитативних особина (боја врха зрна, тип зрна, облик клипа, правост редова и боја окласка), сматрајући да добијене информације испитиваних популација и тестера могу бити корисне приликом одабира почетног материјала. Освртом и на ове особине кандидат још једном указује на сву комплексност искоришћавања генетичке варијабилности коју нуде генетички ресурси.

VIII – Закључак. У овом поглављу кандидат је изнео закључке своје докторске дисертације. На основу истраживања, показало се да локалне популације типа зубана се најбоље комбинују за принос зрна. Статистички значајне корелације приноса зрна локалних популација *per se* и просечне перформансе локалних популација у укрштању са инбред тестерима, указале су да је адитивни ефекат гена превалентни фактор за детерминисање општих комбинационих способности (ОКС) за принос зрна. За све испитиване квантитативне особине утврђене су јаке и веома јаке позитивне корелације између вредности локалних популација *per se* и ОКС (ефекта мајки - популација), односно њихова општа способност комбиновања је такође под најјачим утицајем адитивних гена. Када се посматра ефекат самих тестера, највећи принос постигнут је укрштањем популација са тестером L73B013. У укрштању са сва три инбред тестера, ефекат локалне популације кукуруза МБ1267 био је највећи (8,36 t/ha), а следеће по рангу су локалне популације МБ1346, МБ197, МБ1569, МБ1509 и МБ2036, са високим вредностима ОКС за принос зрна. Наведене популације се могу сматрати вредним носиоцима гена одговорним за високи принос зрна у укрштањима са гермплазмом која припада различитим хетеротичним групама. Десет локалних популација кукуруза (МБ1945, МБ1346, МБ1509, МБ1569, МБ1450,

МБ1960, МБ2006, МБ1534, МБ642 и МБ1665) показало је добре ПКС са тестером L217 (хетеротична група *Iowa Dent*). Седам популација (МБ877, МБ1960, МБ632, МБ1665, МБ1569, МБ1798, МБ773) испољило је добре ПКС са тестером L73B013 (*BSSS × Iowa Dent*). Шест популација (МБ288, МБ2249, МБ773, МБ1534, МБ1346, МБ467) испољило је добре ПКС са тестером L255/75-5 (*Lancaster* гермплазма). Истовремено су идентификовани хетеротични ефекти са два различита инбред тестера, а који наговештавају постојање независне хетеротичне основе у оквиру испитиваног ген-пула локалних популација кукуруза. Локалне популације су се на дендрограму кластер анализе груписале у четири јасно одвојене групе и једну грану, чиме је утврђено да се популација МБ1509 на основу своје генетичке дистанце значајно разликује од свих осталих популација, али и коришћених тестера. Може се закључити да су резултати о фенотипским вредностима *test cross* хибрида из пољских огледа с једне стране, и добијени резултати коефицијената генетичке сличности/дивергентности (молекуларне карактеризације родитељских генотипова) с друге, добрим делом у сагласности, односно популације које су испољиле добре ПКС са одређеним тестером испољиле су са њим и велику молекуларну дивергентност. Бројне популације су такође испољиле велику молекуларну дивергентност са одређеним тестерима, али у пољским огледима нису испољиле висок хетерозис, па стога се може закључити да је генетичка дивергентност неопходан, али не и једини услов за испољавање хетерозиса. Поређењем резултата пољских истраживања и резултата молекуларних маркера са високом поузданошћу се може закључити са којим тестерима популације неће дати хетерозис. Применом молекуларних маркера, пре укрштања у пољу, може се постићи рационализација (смањивањем броја укрштања) пољских истраживања.

IX – Литература. У дисертацији кандидат је на правилан начин навео 268 референци домаћих и страних аутора. Избор референци је актуелан и одговара предмету проучавања. Резултати других аутора коришћени у приказу стања истраживања и за поређење са резултатима добијеним у овој дисертацији у претходно описаним поглављима. Значајан део наведене литературе објављен је у водећим међународним научним часописима и зборницима радова са међународних скупова.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација кандидата Александра Поповића, маг. инж. пољ., под насловом: „Процена оплемењивачке вредности и молекуларна карактеризација локалних популација кукуруза Западног Балкана” представља оригиналан научни рад са теоријским и практичним значајем. Дисертација представља успешно спроведен самостални експериментално-истраживачки, научни рад кандидата, који је у потпуности реализован у складу са планом и програмом предвиђеним пријавом дисертације. Сматрамо да дисертација представља значајан допринос разумевању комбинационих способности и диверзитета локалних популација кукуруза Западног Балкана из колекције ген банке кукуруза. Допринос ове докторске дисертације огледа се у резултатима добијеним из једног свеобухватног и јасно конципираног предоплемењивачког процеса. Идентификоване су популације које су најбољи општи комбинатори за принос зрна и остале особине од значаја у оплемењивању кукуруза. Укрштањем популација са тестерима одређене су хибридне комбинације са високим хетеротичним ефектом и формиране су хетеротичне групе локалних популација.

Извршена је молекуларна карактеризација одабраних локалних популација и тестера применом *SSR* маркера и израчунати су коефицијенти генетичке сличности/дивергентности између испитиваних популација и у односу на тестере. Резултати добијени применом молекуларних маркера су добрим делом у сагласности са резултатима добијеним из пољских огледа, током процене хетеротичног потенцијала одабраних локалних популација кукуруза.

Добијени резултати омогућили су сагледавање вредности локалних популација Западног Балкана кукуруза) у односу на већ постојећи елитни селекциони материјал.

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 одредио потенцијал локалних популација за интрогресију у комерцијални оплемењивачки програм стварања нових инбред линија и F_1 хибрида кукуруза. Резултати докторске дисертације Александра Поповића су верификовани на међународном нивоу, публикавањем у облику два рада у међународним часописима (*Zemdirbyste-Agriculture* и *Romanian Agricultural Research*).

Имајући у виду све изнето, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију кандидата **Александра Поповића, маг. инж. пољ.**, под насловом: **„Процена оплемењивачке вредности и молекуларна карактеризација локалних популација кукуруза Западног Балкана”** 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,
31. 07. 2020.

Чланови Комисије:

Ментор 1 - Др Славен Продановић, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(Ужа научна област: Оплемењивање биљака)

Ментор 2 - Др Војка Бабић, виши научни сарадник
Институт за кукуруз „Земун Поље”
(Ужа научна област: Генетика и оплемењивање биљака)

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

Др Наталија Кравић, виши научни сарадник
Институт за кукуруз „Земун Поље”
(Ужа научна област: Генетика и оплемењивање биљака)

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

Публиковани научни рад из дисертације у међународном часопису:

Popović, A., Kravić, N., Babić, M., Prodanović, S., Sečanski, M., Babić, V. 2020. Breeding potential of maize landraces evaluated by their testcross performance. *Zemdirbyste-Agriculture*, 107 (2): 153–160.
DOI 10.13080/z-a.2020.107.020.

ОЦЕНА ИЗВЕШТАЈА О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

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 „**Оцена оплемењивачке вредности и молекуларна карактеризација локалних популација кукуруза Западног Балкана**“, аутора **Александра Поповића, мастера**, констатујем да утврђено подударање текста износи **17%**. Овај степен подударности последица је цитата, личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, тзв. општих места и података, као и претходно публикованих резултата докторандових истраживања, 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, изјављујем да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

25. 8. 2020. године

Славен Продановић

Ментор