

3
4
5 IZVEŠTAJ O OCENI ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

6
7 I PODACI O KOMISIJI:

8
9 1. Datum i naziv organa koji je imenovao komisiju:

10 22. marta 2017. godine, Nastavno-naučno veće Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta
11 u Beogradu, na 175. sednici

12
13 2. Sastav komisije sa naznakom imena i prezimena svakog člana, zvanja, naziva uže
14 naučne oblasti za koju je izabran u zvanje, godinom izbora u zvanje i naziv fakulteta,
15 ustanove u kojoj je član komisije zaposlen:

16 1. Dr Jevrosima Stevanović – vanredni profesor, Biologija, 2009, Fakultet veterinarske
17 medicine, Univerzitet u Beogradu

18
19 2. Dr Vladimir Dimitrijević – vanredni profesor, Stočarstvo sa genetikom, 2010, Fakultet
20 veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

21
22 3. Prof. dr Zoran Stanimirović – redovni profesor, Biologija – genetika, 2007, Fakultet
23 veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

24
25 4. Prof. dr Slobodanka Vakanjac – redovni profesor, Ginekologija sa andrologijom, 2016,
26 Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

27
28 5. Dr Jelena M. Aleksić – viši naučni saradnik, Molekularna biologija, 2015, Institut za
29 molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo (IMGGI), Univerzitet u Beogradu

30
31
32 II PODACI O KANDIDATU:

33
34 1. Ime, ime jednog roditelja, prezime: Ljubodrag, Dragan, Stanišić

35
36 2. Datum rođenja, opština, Republika: 29.10.1986., Beograd, Savski venac, Srbija

37
38 3. Datum odbrane, mesto i naziv magistarske teze*:

39
40 4. Naučna oblast iz koje je stečeno akademsko zvanje magistra nauka*:

41
42 III NASLOV DOKTORSKE DISERTACIJE: "Fenotipska i molekularno-genetička
43 karakterizacija populacije balkanskog magarca u Republici Srbiji"

44
45 IV PREGLED DOKTORSKE DISERTACIJE (navesti broj strana poglavlja, slika, šema,
46 grafikona i sl.):

47 Doktorska disertacija kandidata Ljubodruga Stanišića napisana je na 199 strana i sadrži
48 sledeća poglavlja: Uvod (3 strane), Pregled literature (64 strane), Cilj i zadaci istraživanja (2
49 strane), Materijal i metode rada (20 strana), Rezultati istraživanja (33 strane), Diskusija (33
50 strane), Zaključci (2 strane), Literatura (29 strana). Poslednje 4 strane su biografija i izjave.
51 Disertacija sadrži 21 tabelu (4 tabele u poglavlju Pregled literature, 5 tabela u poglavlju
52 Materijal i metode i 12 tabela u poglavlju Rezultati), 22 slike (16 slika u poglavlju Pregled
53 literature, 2 slike u poglavlju Materijal i metode i 4 slike u poglavlju Rezultati) i 4 grafikona
54 (poglavlje Rezultati). Sadržaj disertacije, zahvalnica i kratak sadržaj na srpskom i engleskom
55 jeziku nalaze se u prvih 11 strana disertacije.

56
57
58 V VREDNOVANJE POJEDINIH DELOVA DOKTORSKE DISERTACIJE (dati kratak opis
59 svakog poglavlja disertacije: uvoda, pregleda literature, cilja i zadataka istraživanja,
60 materijal i metoda, rezultata, diskusije, spiska referenci):

1
2 U **Uvodu** kandidat navodi značaj i ulogu magarca (*Equus asinus* L., 1758) kao vrste
3 kroz istorijski razvoj civilizacije, kao i činjenicu da je u proteklih 20–30 godina došlo do
4 depopulacije rasa magaraca na globalnom nivou. Kao glavni razlozi navode se gubitak
5 ekonomskog značaja magaraca usled uvođenja mehanizacije i automatizacije u sve aspekte
6 poljoprivredne proizvodnje; i nedostatak odgovarajuće strategije parenja odnosno
7 odgajivačkih programa. Kandidat navodi podatak da su magarci jedna od najmanje
8 proučavanih domaćih životinja na svetu i da je stoga za uvođenje i sprovođenje programa
9 očuvanja, gajenja i zdravstvene zaštite magaraca neophodna identifikacija postojećih rasa
10 magaraca i njihova fenotipska i genetička karakterizacija. U Uvodu se ističe da za većinu rasa
11 magaraca navedeni podaci ne postoje ili su nepotpuni, pa su stoga neophodni konkretni
12 postupci u cilju njihove zaštite i opstanka. S obzirom na to da balkanski magarac, autohtona
13 rasa i genetički resurs Republike Srbije, pripada ugroženoj kategoriji domaćih životinja,
14 kandidat ukazuje na neophodnost fenotipske i genetičke karakterizacije kako bi se formirale
15 strategije za očuvanje diverziteta i implementaciju odgajivačkih, reproduktivnih i mera
16 upravljanja, koje bi omogućile očuvanje i održivu eksploataciju ove rase.

17
18 **Pregled literature** podeljen je u devet potpoglavlja. U prvom kandidat opisuje afričko
19 poreklo vrste magarac i podelu današnjih rasa magaraca na osnovu mitohondrijske DNK
20 (mtDNK) na dve različite haplogrupe, označene sa klada 1 i 2. U drugom potpoglavlju izneti
21 su podaci o arheološkim i genetičkim dokazima o poreklu i domestikaciji magaraca, koji
22 ukazuju na to da su postojale najmanje tri različite rase divljih magaraca u Africi, a da su do
23 danas dve preživele, somalijski i nubijski divlji magarac. U trećem potpoglavlju kandidat
24 opisuje rasprostranjenost i ugroženost magaraca u svetu, broj nestalih i ugroženih rasa, kao i
25 trendove depopulacije u pojedinim delovima sveta. Četvrto potpoglavlje sadrži podatke o
26 fenotipskoj i genetičkoj varijabilnosti u okviru vrste *E. asinus*. U petom potpoglavlju opisan je
27 značaj fenotipske karakterizacije koja označava proces utvrđivanja jasnih populacija određene
28 rase na osnovu morfoloških i fizioloških karakteristika jedinki ali i osobenosti njihovih
29 proizvodnih okruženja. Dodatno, u ovom potpoglavlju kandidat daje pregled do sada
30 izvedenih aktivnosti u cilju fenotipske karakterizacije rasa u okviru vrste magarac, sa
31 posebnim osvrtom na studije vezane za određivanje morfometrijskih parametara, kao i
32 hematoloških i biohemijskih parametara krvi. U okviru detaljnog prikaza podataka iz literature
33 izdvojeni su najčešće korišćeni parametri i predstavljen je opseg graničnih vrednosti za
34 pojedine parametre, na osnovu kojih su determinisane i opisane postojeće i nove rase
35 magaraca. U šestom potpoglavlju kandidat opisuje organizaciju jedarnog i mitohondrijskog
36 genoma vrste magarac, sa posebnim naglaskom na organizaciju i strukturu mitohondrijskog
37 genoma. Detaljno je opisan hipervarijabilni kontrolni region (HVR1) mitohondrijskog genoma,
38 koji se danas najčešće koristi u studijama genetičke karakterizacije. U sedmom potpoglavlju
39 kandidat opisuje morfološke, biohemijske i DNK molekularne markere kao tri glavna tipa
40 genetičkih markera. Ukazuje na postojanje i tri kategorije DNK markera na osnovu njihove
41 lokalizacije: mtDNK, polno vezani i nuklearni autozomalni mikrosatelitski markeri. Detaljno
42 opisuje karakteristike mtDNK markera kao i nastanak, lokalizaciju i karakteristike najčešće
43 korišćenih mikrosatelitskih markera. U osmom potpoglavlju kandidat daje pregled studija
44 genetičke karakterizacije farmskih životinja primenom markera na mtDNK i nuklearnih
45 mikrosatelitskih markera u cilju utvrđivanja genetičkih karakteristika populacija (nivo
46 genetičkog diverziteta i diferencijacije populacija), kao i identifikacije i rekonstrukcije
47 evolucionih, demografskih i drugih procesa koji su tokom vremena delovali na populacije
48 (ekspanzije populacija, prolazak kroz uska grla, genetička izolovanost, selekcija). Posebno je
49 istaknuta genetička karakterizacija vrste magarac primenom markera mtDNK i nuklearnih
50 mikrosatelita, uz navođenje, broja i karakteristika korišćenih markera, kao i ishoda i značaja
51 ranije izvedenih istraživanja usmerenih na genetičku karakterizaciju različitih rasa magaraca.
52 U devetom potpoglavlju opisana je geografska rasprostranjenost preostalih populacija
53 balkanskog magarca na teritoriji Republike Srbije, navedene su važne istorijske činjenice u
54 vezi sa formiranjem ispitivanih populacija, kao i osnovne fenotipske osobine balkanskog
55 magarca. S obzirom na mali broj radova koji uključuju karakterizaciju rasa magaraca i
56 ugroženost balkanskog magarca, kandidat iznosi stav da će određivanje morfometrijskih,
57 biohemijskih i hematoloških parametara krvi balkanskog magarca omogućiti utvrđivanje
58 standarda rase, kao i praćenje zdravstvenog stanja i metaboličkog statusa jedinki odnosno
59 krda. Pored toga, kandidat ističe da će sveobuhvatna genetička karakterizacija omogućiti uvid

1 u genetički diverzitet i evolutivnu istoriju balkanskog magarca, što bi dalo osnov za definisanje
2 strategija i pristupa za plansko gajenje ove autohtone rase.

3
4 **Cilj istraživanja** ove doktorske disertacije bio je da se izvrši fenotipska i molekularno
5 genetička tipizacija uzoraka populacija balkanskog magaraca u Republici Srbiji utvrđivanjem
6 morfometrijskih, hematoloških i biohemijskih parametara krvi, kao i analizom polimorfizama
7 odabranih genetičkih markera (mikrosatelita i HVR1 regiona mtDNK). U skladu sa
8 postavljenim ciljem, definisani su sledeći **zadaci**: (1) odabrati reprezentativnu studijsku
9 populaciju za ispitivanu rasu balkanski magarac koja obuhvata jedinke koje nisu u srodstvu i
10 izvršiti klasifikaciju jedinki prema starosti; (2) izvršiti procenu populacije, ugroženosti i
11 geografske zastupljenosti rase i prikupiti podatke o migriranju jedinki, ukrštanju, starosnoj i
12 polnoj strukturi ispitivane populacije; (3) izvršiti morfometrijska merenja izabranih telesnih
13 parametara; (4) ispitati izabrane hematološke, biohemijske parametre krvi; (5) izvršiti
14 statističku obradu dobijenih morfometrijskih, hematoloških i biohemijskih parametara krvi,
15 definisati granične i srednje fiziološke vrednosti za analizirane parametre i izvršiti uporednu
16 analizu dobijenih vrednosti između starosnih grupa, i uoprediti sa vrednostima parametara
17 drugih rasa dostupnih u literaturi; (6) izvršiti genotipizaciju korišćenjem 17 mikrosatelitskih
18 genetičkih markera uključenih u komercijalni sistem pod nazivom Equine Genotypes Panel
19 1.1 (Thermo Scientific) izabranih u skladu sa preporukama ISAG (International Society for
20 Animal Genetics) za tipizaciju magaraca i izvršiti amplifikaciju HVR1 regiona mtDNK; (7) na
21 osnovu ustanovljenog polimorfizma ispitivanih mikrosatelitskih lokusa utvrditi da li je izabrani
22 set mikrosatelitskih markera odgovarajući za genotipizaciju rase balkanski magarac i izvršiti
23 procenu nivoa jedarnog genetičkog diverziteta u skladu sa ukupnim brojem alela, prosečnim
24 brojem alela po lokusu i vrednostima dobijene i očekivane heterozigotnosti; (8) ustanoviti
25 odstupanja frekvenci gena od Hardy-Weinberg očekivanja za sve ispitivane lokuse; (9) za sve
26 parove ispitivanih mikrosatelitskih lokusa ispitati da li se nalaze u stanju neravnotežne
27 vezanosti; (10) izvršiti uporednu analizu varijabilnosti svakog ispitivanog mikrosatelitskog
28 lokusa kod rase balkanski magarac sa odabranim rasama magaraca kod kojih je polimorfizam
29 odgovarajućih lokusa prethodno ispitivan; (11) na osnovu analize nuklearne DNK ustanoviti
30 genetičku strukturu populacije balkanskog magarca u Srbiji; (12) proceniti stepen genetičkog
31 diverziteta ispitivane populacije balkanskog magarca na nivou mitohondrijskog genoma; (13)
32 utvrditi genetičke distance između ispitivane populacije balkanskog magarca i drugih
33 odabranih prethodno ispitivanih rasa magaraca na osnovu mtDNK podataka; i (14) utvrditi
34 moguće poreklo i evolutivnu istoriju ispitivane populacije balkanskog magarca kroz
35 filogenetsku i filogeografsku analizu mtDNK sekvenci balkanskog magarca i mtDNK sekvenci
36 magarca dostupnih u javnoj banci gena.

37
38 **Materijal i metode rada** detaljno su opisani u posebnom poglavlju. Za ispitivanje je
39 odabrano 77 jedinki balkanskog magarca, sedam mužjaka i 70 ženki, koji su podeljeni u dve
40 starosne grupe. Prva grupa (grupa A) obuhvatala je 22 mlade jedinke starosti od tri i manje
41 godina, dok je u drugoj (grupa B) bilo 55 jedinki starijih od tri godine. Najmlađa ispitivana
42 jedinka imala je 18 meseci, a najstarija 10 godina. U odabranoj populaciji magarci nisu bili u
43 srodstvu. Za svakog magarca uzeti su validni identifikacioni podaci (matični broj, podaci o boji
44 i oznakama, dlaci, polu, poreklu, starosti, kao i podaci o odgajivaču i vlasniku). U Srbiji
45 najveće populacije magaraca trenutno se nalaze u Specijalnom rezervatu prirode „Zasavica“,
46 u regionu Stare planine i u okolini mesta Kovilj, nadomak Novog Sada. Sa navedenih lokacija
47 ispitano je 41 (Zasavica - ZA), 16 (Stara planina - SP) i 20 (Kovilj - KO) jedinki. Za svakog
48 magarca uključenog u ispitivanje pravljen su zasebne liste u koje su upisivane vrednosti za
49 18 morfoloških parametara. Vrednosti šest morfometrijskih parametara izmerene su
50 korišćenjem merne trake i to su: obim grudnog koša, obim karpalnog i tarzalnog zgloba, obim
51 cevanice, dužina uha i dužina glave. Pored toga, korišćen je Lidtinov štap za utvrđivanje
52 vrednosti dodatnih 11 mera: visina u grebenu, visina leđa, visina kuka, dubina grudnog koša,
53 visina karpalnog i tarzalnog zgloba, dužina tela, širina glave, širina grudnog koša, dužina i
54 širina sapi. Procena telesne mase izvršena je na osnovu izmerenih vrednosti obima grudi i
55 dužine tela, prema formuli Pejić (1996). Za hematološke i biohemijske analize krv je
56 uzorkovana od 77 klinički zdravih magaraca venepunkcijom vratne vene (*v. jugularis*), u
57 periodu od maja do avgusta 2013. godine. Manipulacija i fiksiranje životinja obavljani su u
58 skladu sa principima poštovanja dobrobiti životinja. Krv je prikupljena u epruvete sa EDTA
59 antikoagulansom za hematološke analize, a u epruvete bez antikoagulansa za izdvajanje
60 seruma. Epruvete su nakon uzorkovanja skladištene na ledu, a odvajanje seruma i

1 utvrđivanje hematoloških profila obavljeno je u roku od 12 sati posle uzimanja uzoraka krvi.
2 Centrifugiranjem na 2800 obrtaja/min u vremenu od 5 minuta vršeno je odvajanje plazme i
3 seruma iz krvi. Uzorci seruma čuvani su na -20°C pre izvođenja biohemijskih analiza.
4 Kompletna krvna slika dobijena je analizom krvi u automatskom brojaču ćelija (Abacus Junior
5 Vet, Diatron), koristeći unapred formatiran softver za analizu krvi konja. Analizirani su sledeći
6 hematološki parametri: broj belih krvnih zrnaca, broj limfocita, ukupan broj leukocita, broj
7 granulocita, broj crvenih krvnih zrnaca, koncentracija hemoglobina, srednja koncentracija
8 ćelijskog hemoglobina, prosečni ćelijski volumen, broj trombocitnih ćelija, prosečni volumen
9 trombocita, vrednost hematokrita, srednja ćelijska koncentracija hemoglobina i odnos
10 ukupnog broja trombocita i zapremine krvi. Biohemijski profili magaraca uključenih u
11 istraživanje dobijeni su korišćenjem polu-automatizovanog biohemijskog analizatora (Vet
12 Evolution, BSI) i odgovarajućih setova reagenasa, u skladu sa preporučenim standardnim
13 protokolima. Biohemijska analiza obuhvatila je merenje vrednosti sledećih parametara:
14 aspartat aminotransferaza, alkalna fosfataza, urea, kreatinin, albumin, ukupni proteini, laktat
15 dehidrogenaza, kreatin kinaza, g-glutamilttransferaza, ukupni bilirubin, holesterol, trigliceridi,
16 kalcijum i neorganski fosfor.

17 Ekstrakcija DNK izvedena je korišćenjem komercijalnog seta za ekstrakciju totalne
18 genomske DNK iz krvi (GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit, Thermo
19 Scientific), prema uputstvu proizvođača. Izolati DNK čuvani su na temperaturi od -20°C u
20 skladu sa preporukama proizvođača. Prinosi i čistoća ekstrahovane genomske DNK utvrđeni
21 su spektrofotometrijski (BioPhotometer spectrophotometer system, Eppendorf). Rastvori
22 genomske DNK razblaženi su do koncentracije od 1-2 ng/uL, u skladu sa preporukama
23 proizvođača.

24 Genotipizacija jedinki rase balkanski magarac izvršena je korišćenjem nuklearnih
25 mikrosatelita dostupnih u navedenom komercijalnom setu. Ovim sistemom simultano se
26 amplifikuje 17 lokusa, a direktni (F) prajmeri za amplifikaciju svakog lokusa obeleženi su
27 fluorescentnim bojama. Nakon razdvajanja PCR produkata kapilarnom elektroforezom
28 korišćenjem aparata ABI 3100 (Applied Biosystems), izvršena je detekcija fluorescentno
29 obeleženih DNK fragmenata laserskim sistemom, a zatim je utvrđena njihova dužina
30 poređenjem sa lestvicom (GeneScan™ 500 LIZ™ dye Size Standard, ThermoFisher).
31 Mikrosatelitski lokusi koji su analizirani u ovom istraživanju su: *AHT4*, *AHT5*, *ASB2*, *ASB17*,
32 *ASB23*, *CA425*, *HTG4*, *HTG6*, *HTG7*, *HTG10*, *HMS1*, *HMS2*, *HMS3*, *HMS6*, *HMS7*, *LEX3* i
33 *VHL20*. Svi navedeni mikrosatelitski lokusi se nalaze na ISAG-FAO listi koja daje preporuke o
34 načinu molekularne karakterizacije životinjskih genetičkih resursa. Amplifikacija svih 17
35 mikrosatelitskih lokusa izvršena je u jednoj multipleks PCR reakciji prema protokolu
36 preporučenom od strane proizvođača. Mastermiks za jedan uzorak imao je zapreminu od 20
37 µl i sadržao je 9 µl Equine Genotypes Master Mix (F-851), 9 µl Equine Genotypes Panel 1.1
38 Primer Mix (F-852) i 2 µl izolata DNK. Za izvođenje PCR reakcije korišćen je MultiGene
39 Gradient (Labnet International Inc.). Temperaturni protokol obuhvatao je sledeće faze:
40 inicijalna denaturacija na 95°C u trajanju od 3 minuta, a zatim kroz 30 ciklusa smenjivanje
41 procesa denaturacije na 95°C u trajanju od 15 sekundi, hibridizacije prajmera na 60°C u
42 trajanju od 75 sekundi i elongacije prajmera u trajanju od 30 sekundi na 72°C. Finalna
43 elongacija odvijala se na 72°C tokom poslednjih pet minuta.

44 Separacija produkata dobijenih PCR amplifikacijom ispitivanih mikrosatelitskih lokusa
45 u uzorcima rase balkanski magarac izvršena je u ABI 3100 (Applied Biosystems)
46 automatskom sekvenatoru. Svaki uzorak sa PCR produktima, u zavisnosti od prethodno
47 ustanovljene količine DNK, razblaživan je dodavanjem 20 µl do 100 µl dejonizovane vode. Za
48 kapilarnu elektroforezu korišćen je set boja Multi-Capillary DS-33 (Dye Set G5) Matrix
49 Standard Set (Applied Biosystems). Dužina PCR produkata procenjena je na osnovu
50 poređenja sa odgovarajućom lestvicom koja sadrži DNK fragmenate tačno definisanih dužina,
51 kao i primenom Genotyper® softvera (Applied Biosystems).

52 Odabrani prajmeri za PCR amplifikaciju mitohondrijskog lokusa HVR1 od 479 baznih
53 parova su 5'-CCCAAGGACTATCAAGGAAG-3' i 5'-GGAATGGCCCTGAAGAAAG-3'.
54 Navedeni lokus je amplifikovan kod 49 magaraca (30 uzoraka - ZA, 10 - SP i 9 - KO). PCR
55 reakcije izvedene su u mastermiksi zapremine 20 µL, koji je sadržao 2 µL 10 x PCR pufera
56 (KAPA Biosistems), 10 mM dNTP, 10 µM svakog prajmera, 25 mM MgCl₂, 2 µL ekstrahovane
57 DNK koncentracije 2 ng/µl i 0,5 U Taq polimeraze (KAPA Biosistems). Za izvođenje PCR
58 reakcije korišćen je MultiGene Gradient (Labnet International Inc.). Temperaturni protokol
59 obuhvatao je sledeće korake: inicijalna denaturacija na 95°C u trajanju od 5 minuta, a zatim
60 su se kroz 35 ciklusa smenjivali procesi denaturacije na 95°C u trajanju od 20 sekundi,

1 hibridizacije prajmera na 55°C u trajanju od 30 sekundi i elongacije prajmera u trajanju od 30
2 sekundi na 72°C. Finalna elongacija odvijala se na 72°C tokom poslednjih pet minuta. PCR
3 produkti prečišćeni su korišćenjem seta QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen). Utvrđivanje
4 primarnog redosleda nukleotida (sekvenciranje) PCR produkata izvršeno je komercijalno, od
5 strane kompanije MacroGen Europe (Holandija), u jednom 5'-3' pravcu metodom BigDye
6 Terminator u automatskom DNK sekvencatoru ABI 3730 XL (Applied Biosystems).

7 Podaci vezani za telesne mere, hematološke i biohemijske parametre krvi
8 predstavljeni su kroz srednju vrednost, medijanu, kvartilnu vrednost i koeficijent varijacije
9 (CV). Shapiro-Wilk W test korišćen je u cilju procene normalne raspodele podataka, nakon
10 čega je pomoću Levin-ovog testa određena homogenost razlike. Promenljive sa normalno
11 distribuiranim podacima i homogenim varijacijama upoređene su između dve starosne grupe
12 t-testom, a u suprotnom korišćen je Mann-Whitney U-test. Sličnost balkanskog magaraca sa
13 ostalim rasama magaraca ispitivana je kroz klaster analize, na osnovu udaljenosti po
14 Euclidean-u i Ward-ovom načinu povezivanja. Statističke razlike za pet odabranih morfoloških
15 parametara između rasa magaraca određene su korišćenjem t-testa. Razlike su smatrane
16 kao značajne za vrednosti $P < 0,05$. Statistička analiza dobijenih rezultata u eksperimentu
17 izvedena je korišćenjem softverskog paketa STATISTICA v.6 (StatSoft, Inc.). Za obradu
18 molekularno genetičkih podataka na nivou jedarne DNK korišćeni su sledeći paketi: MICRO-
19 CHECKER 2.2.1 (van Oosterhout i sar., 2004), Arlequin ver. 3.5.2 (Excoffier i sar., 2006),
20 GENEPOP 4.2 (Rousset, 2008) i STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard i sar., 2000). Za obradu
21 mitohondrijskih sekvenci korišćeni su paketi Muscle (Edgar, 2004) u paketu MEGA 5.04
22 (Tamura i sar., 2011), Arlequin ver. 3.5.2, Paleontological Statistics (PAST) ver.3.0 (Hammer i
23 sar., 2001) i NETWORK 4.6.1.2 (Bandelt i sar., 1999).

24
25 U poglavlju **Rezultati** kandidat je pregledno i jasno prikazao rezultate u četiri
26 potpoglavlja. U prvom potpoglavlju prikazane su vrednosti 18 telesnih parametara korišćenih
27 za morfometrijsku karakterizaciju rase balkanski magarac. Vrednosti ovih parametara
28 pokazale su homogenost ($CV < 30\%$) u obe starosne kategorije. Većina vrednosti telesnih
29 mera magaraca u grupi B (starijih od 3 godine) imala je normalnu raspodelu, za razliku od
30 većine varijabli kod magaraca u grupi A (3 godine i mlađih) kod kojih nije postojala normalna
31 raspodela podataka (Shapiro-Wilk's W test, $P < 0,05$). Između grupa A i B uočena je značajna
32 razlika ($P < 0,05$) za četiri od 18 parametara odnosno za meru za dužinu tela, dužinu glave,
33 obim grudnog koša i telesne mase. Rezultati t-testa pokazali su značajne razlike ($P < 0,01$)
34 kada je pet odabranih telesnih parametara (visina u grebenu, dubina grudnog koša, dužina
35 tela, širina grudnog koša, obim grudnog koša) balkanskog magaraca upoređeno sa
36 vrednostima istih parametara katalonskog i hrvatskih magaraca dostupnih u literaturi.
37 Poređenjem vrednosti navedenih pet telesnih parametara balkanskog magaraca sa albanskom
38 populacijom magaraca ustanovljene su statistički značajne razlike u vrednostima svih
39 parametara izuzev u vrednostima dužine tela ($P > 0,05$). Hijerarhijska klaster analiza vrednosti
40 morfometrijskih parametara rasa magaraca prethodno analiziranih t-testom pokazala je
41 izdvajanje dva klastera. Prvi klaster obuhvatio je katalonskog, istarskog i severno-jadranskog
42 magaraca, dok su drugom klasteru pripali primorsko-dinarski, albanski i balkanski magarac.
43 Najmanja udaljenost ustanovljena je između balkanskog magaraca i albanskih magaraca, dok
44 je na osnovu morfometrijskih podataka najveća divergencija uočena između katalonske i
45 primorsko-dinarske rase magaraca.

46 U drugom potpoglavlju prikazane su dobijene vrednosti za hematološke i biohemijske
47 parametre krvi ispitivanih jedinki balkanskog magaraca. Homogenost dobijenih rezultata
48 pokazana je za većinu ispitivanih hematoloških parametara, osim za broj limfocita, ukupan
49 broj leukocita, broj granulocita, broj trombocita i odnos ukupnog broja trombocita i zapremine
50 krvi u obe starosne grupe kao i vrednost broja belih krvnih zrnaca u grupi B. Hematološke
51 vrednosti ispitivanih parametara u grupi A bile su normalno distribuirane. U grupi B vrednosti
52 broja belih krvnih zrnaca, broja limfocita, ukupnog broja leukocita, broja granulocita, broja
53 trombocita i odnosa ukupnog broja trombocita i zapremine krvi nisu pratile normalan model
54 distribucije. Rezultati U-testa pokazali su značajno veće ($P < 0,05$) vrednosti broja belih krvnih
55 zrnaca, ukupnog broja leukocita i broja granulocita u grupi magaraca do tri godine starosti u
56 odnosu na odrasle životinje. Biohemijski parametri pokazali su najveću varijabilnost u okviru
57 obe starosne grupe. Vrednosti pet analita (aspartat aminotransferaza, g-glutamilttransferaza,
58 holesterol, kalcijum i fosfor) iz grupe A nisu imale normalnu raspodelu. Suprotno, u grupi B
59 samo su vrednosti četiri analizirana parametra (albumini, ukupni proteini, laktat
60 dehidrogenaza i g-glutamilttransferaza) imali normalnu raspodelu. Za navedene biohemijske

1 parametre krvi nije uočen uticaj starosti, jer nije zabeležena statistički značajna razlika za bilo
2 koji od parametara između dve starosne grupe. Jedini izuzetak je alkalna fosfataza. Kod
3 mladih magaraca vrednosti za alkalnu fosfatazu bile su značajno veće ($P < 0,05$) u odnosu na
4 vrednosti zabeležene kod odraslih magaraca.

5 U trećem potpoglavlju kandidat izlaže rezultate vezane za molekularno genetičke
6 analize. **Karakteristike jedarnih mikrosatelita.** Od 17 analiziranih mikrosatelitskih lokusa,
7 uspešnost PCR amplifikacije i polimorfnost pokazalo je 12 lokusa. Mikrosatelitski lokusi koji
8 su isključeni iz daljih analiza su *ASB2*, *ASB17*, *HTG4*, *HMS1* i *HMS7*. Iako je lokus *LEX3*
9 uspešno amplifikovan kod svih analiziranih jedinki, sa ustanovljenih 8 alela od kojih je alel
10 označen kao 7 (162 bp) imao najvišu učestalost (0.649) među analiziranim markerima, ovaj
11 lokus isključen je iz daljih analiza jer je lociran na X hromozomu. Analiza odabranih 11 lokusa
12 u paketu MICROCHECKER utvrdila je da ni na jednom lokusu ne postoji dominacija kratkih
13 alela i da „stutter“ pikovi ne dovode do pogrešne identifikacije dužine alela. Uočeno je
14 prisustvo nultih alela i to kod lokusa koji se nisu amplifikovali kod većeg broja jedinki, kao što
15 su lokus *ATH5* u ZA i SP populaciji i lokus *HTG6* u SP populaciji, ali i kod lokusa *VHL20* u ZA
16 populaciji koji se, za razliku od prethodno navedenih, uspešno amplifikovao kod svih jedinki.

17 **Genetički diverzitet rase balkanski magarac na nivou jedarnog genoma.** Ukupan
18 broj alela na 11 mikrosatelitskih lokusa u ispitivanoj populaciji balkanskog magarca bio je 102.
19 Broj alela po lokusu bio je u opsegu od pet (*HTG6*) do 13 (*AHT5*), sa prosečnim brojem alela
20 po lokusu od 9.27. Za pet ispitivanih mikrosatelitskih lokusa (*AHT4*, *ASB23*, *CA425*, *HTG6*,
21 *HMS2*) dužina ustanovljenih alela (bp) odgovarala je očekivanom opsegu dužina za date
22 mikrosatelitske markere. Sedam mikrosatelitskih lokusa (*AHT5*, *HTG7*, *HTG10*, *HMS3*,
23 *HMS6*, *LEX3* i *VHL20*) pokazalo je alele koji su bili van preporučenih opsega od strane
24 proizvođača. Najveći broj alela, 13, ustanovljen je za lokus *AHT5* kod koga su četiri alela
25 pokazala više učestalosti, pri čemu je najvišu učestalost od 0,337 imao alel 2. Najveću
26 učestalost pojedinačnog alela u celokupnoj analiziranoj populaciji, ne uzimajući u obzir X-
27 vezani lokus *LEX3*, imao je alel 3 na lokusu *VHL20* i iznosila je 0,532. Lokusi koji su pokazali
28 najviši stepen polimorfizma prema broju ustanovljenih alela, 12, i prema distribuciji učestalosti
29 alela su *HTG10* i *HMS3*.

30 Efektivni broj alela iznosio je 4,55 u ukupnom uzorku. Ukupan broj privatnih alela
31 (PA) iznosio je 27, od kojih je najveći broj bio u ZA populaciji (21), zatim u SP populaciji (6),
32 dok u KO populaciji nisu nađeni. Pojedinačni lokus sa najviše PA (6) bio je *HMS3* u ZA
33 populaciji. Procenjene vrednosti H_0 i H_E za pojedinačne lokuse bile su visoke u sve tri
34 ispitivane populacije magaraca, kao i u celom uzorku za koji su iznosile $H_0=0,798$ i $H_E=0,763$.
35 Najviša vrednost $H_0=0,998$ dobijena je za lokus *HTG10*, a najniža vrednost od 0,426 za lokus
36 *HTG6*. Vrednost H_E bila je u opsegu od 0,648, koliko je iznosila vrednost ovog parametra za
37 marker *VHL20*, do 0,836, što je očekivana heterozigotnost za *AHT4* sa 11 alela. Od 11
38 analiziranih mikrosatelitskih lokusa, učestalosti genotipova na četiri lokusa (*AHT4*, *ASB23*,
39 *HMS2* i *HTG7*) bile su u skladu sa očekivanjima prema Hardy-Weinberg-ovoj ravnoteži, dok je
40 na preostalih sedam lokusa pokazano značajno odstupanje od Hardy-Weinberg-ovih
41 očekivanja. Značajan deficit heterozigota ustanovljen je na tri lokusa (*AHT5*, *HTG6* i *VHL20*) u
42 ZA populaciji i dva lokusa (*HTG6* i *AHT5*) u SP populaciji magaraca, dok je statistički
43 značajan višak heterozigota u navedene tri populacije ispoljen na po četiri lokusa u ZA i SP
44 populaciji i na šest lokusa u KO populaciji. Postojanje neravnotežne vezanosti pokazano je u
45 29 od 165 testova, i to u najvećem broju u ZA (16 testova) i KO (10 testova) populaciji.
46 Ustanovljeno je da su u stanju neravnotežne vezanosti sledeći parovi lokusa: *HMS6* i *ASB23*,
47 *HMS6* i *HTG10*, *VHL20* i *HMS3*.

48 **Genetički diverzitet ispitivane populacije balkanskog magarca na nivou**
49 **mitohondrijskog genoma.** Mitohondrijski lokus HVR1 uspešno je PCR amplifikovan kod 49
50 jedinki rase balkanski magarac i utvrđen je primarni redosled nukleotida ovog regiona kod
51 svih jedinki, a poravnata dužina regiona bila je 479 bp. U ovom regionu otkriveno je 25
52 varijabilnih mesta i to 20 „parsimony“ informativnih pozicija i pet singletona, kao i jedan indel
53 (insercija/delecija) dužine 1 bp. Na osnovu mutacija u ovom regionu, definisano je 19
54 haplotipova (h1-h19) koji su prijavljeni u gensku bazu podataka i zavedeni pod pristupnim
55 brojevima KR081377-KR081395. Dobijeni haplotipovi upoređeni su sa dostupnim
56 haplotipovima u banci gena i utvrđena je njihova pripadnost jednoj od dve prethodno
57 definisane linije (klade).

58 Pet haplotipova (h8, h9, h10, h15 i h16) je prijavljeno po prvi put (novi haplotipovi), od
59 kojih su h8 i h15 poticali iz ZA populacije, h10 i h16 iz SP populacije i h9 iz KO populacije
60 ispitivanih magaraca. Haplotip sa najvišom učestalošću u sve tri populacije je h12, koji je bio

1 prisutan kod 14 jedinki. Pored toga, kod ispitivane populacije pronađeno je 14 privatnih
2 haplotipova, od kojih osam u ZA populaciji (h2, h3, h5, h7, h8, h14, h17 i h18), tri u SP
3 populaciji (h10, h13 i h16) i tri u KO populaciji (h1, h9 i h11). Relativno visok mtDNK diverzitet
4 primećen je u sve tri populacije magaraca, sa prosečnim vrednostima haplotip i nukleotidnog
5 diverziteta od $0,849 \pm 0,087$, odnosno $0,01549 \pm 0,008$.

6 **Genetička struktura ispitivane populacije balkanskog magarca.** Rezultati dobijeni
7 analizom jedarne i mtDNK korišćeni su za utvrđivanje genetičke strukture (diferencijacije)
8 analiziranih populacija magaraca. Sve vrednosti indeksa genetičke diferencijacije (F_{ST})
9 između parova populacija za jedarne DNK podatke bile su niske, ali statistički značajne.
10 Najveća vrednost F_{ST} od 0,031 je nađena između ZA i KO populacija magaraca koje su
11 geografski bliske (udaljene oko 70 km), dok su vrednosti F_{ST} između geografski udaljenih
12 parova populacija ZA i SP kao i KO i SP bile skoro upola manje i iznosile su 0,016 odnosno
13 0,014. Analizom mtDNK podataka nije utvrđena izrazita genetička diferencijacija između
14 ispitivanih populacija.

15 Izvršena je analiza molekularne varijanse (AMOVA) mikrosatelitskih i mtDNK
16 podataka u cilju procene distribucije molekularne varijacije unutar i između populacija.
17 AMOVA analiza mikrosatelitskih podataka pokazala je da 108,17% ukupne molekularne
18 varijacije potiče od varijacija između jedinki (F_{IT}), a preostalih 2,55% od varijacije između
19 ispitivanih populacija (F_{ST}) koja je pokazala statističku značajnost ($F_{ST}=0,025$, $P<0,01$). Na
20 osnovu rezultata dobijenih analizom mtDNK, AMOVA I, u kojoj su analizirane ispitivane
21 populacije balkanskog magarca, pokazano je da je ukupna genetička diferencijacija između
22 ZA, SP i KO populacija magaraca niska ($F_{ST}=0,00172$) i bez statističke značajnosti ($P>0,05$).
23 U širem kontekstu, analizirajući mtDNK podatke 19 populacija magaraca poreklom iz Evrope i
24 Afrike sa ispitivanim balkanskim magarcima, AMOVA II analiza pokazala je visok procenat
25 molekularne varijanse (78,98%) unutar jedinki istih populacija sa statistički značajnom
26 vrednošću F_{ST} od 0,2102 ($P=0,000$), dok je između poređenih populacija procenat bio nizak
27 (21,02%). Dobijene vrednosti F_{ST} u analizi AMOVA II sumirane su kroz MDS grafikom u kojem
28 je uočljivo grupisanje populacija u pet grupa. MtDNK haplotipovi nađeni kod istraživanih
29 balkanskih magaraca iz Srbije grupisani su zajedno sa balkanskim magarcima iz Grčke,
30 hrvatskim magarcima, etiopskim sinar magarcima, kao i sa nubijskim divljim magarcima.
31 Drugoj grupi pripala je većina jedinki iz prethodno analiziranih populacija sa teritorije Balkana
32 (Albanija, Bugarska, Hrvatska, Kosovo, Makedonija, Crna Gora i Srbija), Ukrajine i Etiopije
33 (afar i hararg populacije). Treća grupa obuhvatila je jedinke koji potiču iz dve etiopske
34 populacije magaraca (abisinski i omo) i rumunske populacije magaraca, ukazujući na veći
35 genetički afinitet (sličnost) između ovih populacija. Etiopski ogaden magarci i somalijski divlji
36 magarci predstavljali su četvrtu odnosno petu, genetički najudaljeniju grupu. Hijerarhijska
37 analiza molekularne varijanse, AMOVA III, uključila je populacije prethodno grupisane u MDS
38 grafikonu i pokazala je da 27,97% molekularne varijanse pripada varijaciji između grupa.
39 Relativno visoka i statistički značajna vrednost F_{CT} od 0,279 ($P=0,000$), ali i niska i bez
40 značajnosti vrednost F_{SC} (0,0163, $P>0,05$) potvrdile su pravilno grupisanje ispitivanih
41 populacija u prethodnim analizama (MDS).

42 Rezultati STRUCTURE analize za zadati broj genetičkih grupa $K=2$ do 5 pokazali su
43 da je optimalan broj nezavisnih genetičkih grupa $K=2$. Dobijene genetičke grupe nisu se
44 poklapale sa ispitivanim populacijama, odnosno obe genetičke grupe bile su zastupljene u
45 svim ispitivanim populacijama, ali u različitom procentu. Takozvani zeleni genski fond je
46 dominirao u populaciji ZA, a crveni u populaciji KO. Na $K=3$ uočeno je prisustvo treće, plave
47 genetičke grupe. Približno jedna trećina jedinki iz ZA populacije magaraca raspoređena je u
48 prvu (zelenu) genetičku grupu sa prilično visokom verovatnoćom pripadnosti ($qi>0,90$). ZA
49 populacija obuhvatala je i više jedinki snažno dodeljenih drugom (plavom) i trećem (crvenom)
50 genofondu. Crveni genski fond preovladavao je u KO populaciji. Kod magaraca iz SP
51 populacije nekoliko jedinki snažno je dodeljeno ili plavom ili crvenom genofondu, dok je
52 većina magaraca pokazivala hibridno poreklo detektovano na osnovu pripadnosti iste jedinke
53 različitim genofondovima, ali sa različitim verovatnoćama pripadnosti. Kod analize sa četiri i
54 pet pretpostavljenih grupa ($K=4$; $K=5$), samo jedinke koje su pripadale zelenom genofondu u
55 ZA populaciji i crvenom genofondu u KO populaciji ostale su snažno dodeljene ovim
56 genetičkim grupama, dok su preostale jedinke pokazivale hibridno poreklo i mešanje različitih
57 genofondova u svojim genetičkim profilima.

58 Nakon identifikacije mtDNK haplotipova klada 1 i 2 kod jedinki koje pripadaju
59 zelenom, crvenom i plavom genofondu na $K=3$, uočeno je da su u ZA populaciji jedinke koje
60 pripadaju zelenom genofondu skoro isključivo okarakterisane haplotipovima iz klade 2, dok su

1 u KO populaciji jedinke snažno dodeljene crvenom genofondu pripadale podjednako mtDNK
2 haplotipovima iz klada 1 i 2. Preostale jedinke koje su pokazivale hibridno poreklo na nivou
3 jedarnog genoma pripadale su uglavnom kladi 2 i ustanovljena je njihova predominacija u
4 celokupnom uzorku ispitivanih magaraca (nalaze se u 35 od ukupno 49 jedinki, 71,43%).

5 **Utvrđivanje porekla i odnosa ispitivane populacije balkanskog magarca sa**
6 **drugim populacijama magaraca na osnovu filogenetskih i filogeografskih analiza.** Na
7 osnovu sekvenci HVR1 regiona mtDNK ispitivanih jedinki rase balkanski magarac i sekvenci
8 nubijskih (NWA) i somalijskih divljih magaraca (SWA) konstruisano je filogenetsko Neighbour
9 Joining (NJ) stablo u kojem su utvrđene dve dobro podržane klade, saglasne sa prethodno
10 prijavljenim kladama 1 i 2. Klada 1 obuhvatila je jedan NWA haplotip i devet haplotipova
11 balkanskog magarca (h1 - h9). Dve dobro podržane sub-klade uočene su u kladi 2. Prva sub-
12 klada sastojala se od tri sekvence SWA, dok je druga obuhvatila dva haplotipa NWA i 10
13 preostalih haplotipova balkanskog magarca (h10 - h19).

14 Na filogeografskoj Median Joining (MJ) mreži, u kojoj su predstavljeni geneološki
15 odnosi haplotipova ispitivane populacije balkanskog magarca kao i prethodno objavljenih
16 mtDNK sekvenci magaraca iz Evrope i Azije, haplotipovi nađeni kod ispitivanih balkanskih
17 magaraca bili su organizovani u dve grupe koje odgovaraju prethodno definisanim kladama 1
18 i 2 (h1 – h9 u kladi 1, h10 - h19 u kladi 2). Pored toga, oni su zauzeli centralne i prve
19 pericentralne čvorove u obe klade. Devet haplotipova istraživanih balkanskih magaraca bili su
20 jedinstveni i činili su centralne i pericentralne čvorove u obe klade, ali i tranzicione čvorove ka
21 drugim izvedenim haplotipovima u kladi 1 (h2 i h7). Veliki broj haplotipova balkanskih
22 magaraca iz klade 2 predstavljeni su kao prvi pericentralni čvorovi nastali od predačkih
23 haplotipova pozicioniranih u centralnom čvoru, sa genetičkom razlikom od jedne mutacije. Tri
24 sub-klade otkrivene su u kladi 2, od kojih su u jednoj sub-kladi svrstani haplotipovi nađeni u
25 Albaniji, Bugarskoj, Hrvatskoj, Srbiji i Etiopiji (afar i sinar populacije), druga je obuhvatila
26 haplotipove iz Albanije, Hrvatske, Srbije, a treća je predstavljena kao najveća i
27 najdivergentnija linija koja se sastojala od haplotipova poreklom iz Grčke, Bugarske,
28 Hrvatske, Crne Gore i jednog haplotipa iz Etiopije (afar). Organizacija haplotipova u vidu sub-
29 klada bila je češća u kladi 1. One su obuhvatale haplotipove koji su pripadali isključivo
30 populacijama balkanskog magarca, populacijama magaraca iz Etiopije, ili su obuhvatali i
31 balkanske i etiopske haplotipove. Većina haplotipova iz ispitivane populacije balkanskog
32 magarca (h1, h2, h6, h7 i h8) iz klade 1 pripala je najvećoj sub-kladi, koja je pored toga
33 obuhvatala i haplotipove iz Grčke, Albanije, Bugarske, Hrvatske, Makedonije, Rumunije i
34 Etiopije (afar, abisinski i omo).

35 U poglavlju **Diskusija**, kandidat je kritički razmotrio i tumačio dobijene rezultate i
36 uporedio ih sa dostupnim podacima iz domaće i strane literature.

37 U poglavlju **Spisak literature** citirano je 265 relevantnih referenci.

41 VI **ZAKLJUČCI ISTRAŽIVANJA** (navesti zaključke koji su prikazani u doktorskoj 42 **disertaciji):**

43
44 Na osnovu rezultata postignutih u radu kandidat je izveo sledeće zaključke:

- 45 1. Na osnovu normalne distribucije vrednosti morfoloških parametara ispitivanih jedinki,
46 kao i značajne morfološke razlike u odnosu na upoređene rase magaraca,
47 ustanovljene vrednosti telesnih mera za balkanskog magarca mogu se koristiti kao
48 referentne.
- 49 2. Vrednosti hematoloških i biohemijskih parametara krvi kao i pokazana korelacija
50 navedenih parametara sa odgovarajućim starosnim grupama u ispitivanoj populaciji
51 balkanskog magarca odgovaraju vrednostima ustanovljenim u prethodnim
52 istraživanjima sprovedenim na magarcima.
- 53 3. Komercijalni panel mikrosatelita namenjen genotipizaciji konja omogućava pouzdanu
54 genotipizaciju i individualnu identifikaciju jedinki rase balkanski magarac.
- 55 4. Na nivou tri ispitivane populacije rase balkanski magarac u Srbiji, odstupanja
56 frekvenci gena od Hardy-Weinberg očekivanja i statistički značajan suficit homozigota
57 uočavaju se samo kod populacije u Zasavici, što je posledica substrukture populacije
58 odnosno Wahlund efekta.
- 59 5. Utvrđeno je da u ukupnom uzorku postoje dva genofonda od kojih prvi predstavlja
60 heterogenu rasu balkanski magarac i obuhvata dve subpopulacije, a drugi obuhvata

- 1 određeni broj jedinki u populaciji u Zasavici i jasno se razlikuje od od rase balkanski
2 magarac. Uzimajući u obzir i fenotipske osobine jedinki drugog genofonda,
3 pretpostavka je da ove jedinke pripadaju do danas neokarakterisanoj rasi banatski
4 magarac.
- 5 6. Rezultati prve studije genetičke karakterizacije populacije balkanskog magarca
6 poreklom iz Srbije primenom jedarnih mikrosatelita pokazali su da ispitivane
7 populacije nisu ozbiljno pogođene gubitkom genetičkog diverziteta niti ukrštanjem u
8 srodstvu, uprkos znatnoj depopulaciji u proteklih nekoliko decenija.
- 9 7. Ispitivane populacije rase balkanski magarac iz Srbije odlikuju se visokim nivoom
10 genetičke raznovrsnosti i na nivou mitohondrijskog genoma.
- 11 8. Filogenetska analiza na nivou mtDNK je pokazala heterogenost mitohondrijskih
12 haplotipova detektovanih kod jedinki ispitivane rase balkanski magarac, koji su
13 organizovani u dve sestrinske klade, 1 i 2.
- 14 9. Filogeografskom analizom utvrđena je prisutnost grčkih haplotipova u centralnom
15 čvoru i u bazalnim čvorovima nekoliko pod-linija detektovanih u okviru i klade 1 i
16 klade 2, što ukazuje i potvrđuje teoriju da se ekspanzija magaraca na Balkansko
17 poluostrvo odvijala preko Grčke.
- 18 10. Magaraci za koje su karakteristični haplotipovi klade 1 ranije su stigli na Balkansko
19 poluostrvo, ali je njihova dalja ekspanzija bila ograničena. Magarci koji pripadaju kladi
20 2 dospeli su na Balkan nakon magaraca iz klade 1 i imali su uspešnu ekspanziju i
21 diversifikaciju u ovom regionu.
- 22
23

24 **VII OCENA NAČINA PRIKAZA I TUMAČENJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA (navesti da li**
25 **su dobijeni rezultati u skladu sa postavljenim ciljem i zadacima istraživanja, kao i da li**
26 **zaključci proizilaze iz dobijenih rezultata):**

27

28 Rezultati istraživanja, koje je u okviru izrade doktorske disertacije sproveo kandidat, u
29 potpunosti su u skladu sa postavljenim ciljem i zadacima istraživanja. Dobijeni rezultati
30 prikazani su precizno, logičnim redosledom, pregledno, jasnim i razumljivim stilom.
31 Predstavljanje i tumačenje dobijenih rezultata pokazuju veliko naučno znanje i zrelost
32 kandidata. Izvedeni zaključci jasno su formulisani i u skladu sa postavljenim ciljem i dobijenim
33 rezultatima istraživanja.

34

35 **VIII KONAČNA OCENA DOKTORSKE DISERTACIJE:**

36

37 **1. Da li je disertacija napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme?**

38 Doktorska disertacija kandidata Ljubodraga Stanišića pod naslovom "Fenotipska i
39 molekularno-genetička karakterizacija populacije balkanskog magarca u Republici Srbiji" je
40 napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme.

41 **2. Da li disertacija sadrži sve elemente propisane za završenu doktorsku disertaciju?**

42 Doktorska disertacija kandidata Ljubodraga Stanišića pod naslovom "Fenotipska i
43 molekularno-genetička karakterizacija populacije balkanskog magarca u Republici Srbiji"
44 sadrži sve bitne elemente propisane za završenu doktorsku disertaciju.

45 **3. Po čemu je disertacija originalan doprinos nauci?**

46 Doktorska disertacija pod nazivom „Fenotipska i molekularno-genetička karakterizacija
47 populacije balkanskog magarca u Republici Srbiji“, kandidata Ljubodraga Stanišića, pruža niz
48 novih saznanja o ugroženoj autohtonoj rasi balkanski magarac. U okviru disertacije izvršen je
49 prvi detaljan opis morfoloških, hematoloških i biohemijskih parametara rase balkanski
50 magarac. Dobijeni rezultati predstavljaju neophodan osnov za formiranje standarda rase,
51 praćenje reproduktivnog i zdravstvenog statusa jedinki i krda, kao i za uvođenje odgajivačkih
52 programa. U okviru ovog istraživanja izvršena je prva genetička karakterizacija rase balkanski
53 magarac na osnovu polimorfizma odabranih genetičkih markera (mikrosatelita i HVR1 regiona
54 mtDNK). Po prvi put je dokazano da je komercijalni panel mikrosatelita namenjen konjima
55 odgovarajući za genotipizaciju i individualnu identifikaciju jedinki rase balkanski magarac.
56 Istraživanjem su dobijeni veoma važni podaci o genetičkom diverzitetu i evolutivnoj istoriji
57 balkanskog magarca koji, pored jasnog naučnog značaja, predstavljaju korisne smernice za
58 razvoj strategija planskog gajenja ove rase i stoga imaju i neposredan praktičan značaj.

59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42

IX PREDLOG:

Na osnovu ukupne ocene disertacije, komisija predlaže (odabrati jednu od tri ponuđenih mogućnosti):

- da se doktorska disertacija prihvati a kandidatu odobri odbrana**
- da se doktorska disertacija vrati kandidatu na doradu
- da se doktorska disertacija odbije

DATUM
12.04.2017.

POTPISI ČLANOVA KOMISIJE

Dr Jevrosima Stevanović, vanredni profesor,
Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

Dr Vladimir Dimitrijević, vanredni profesor,
Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

Dr Zoran Stanimirović, redovni profesor,
Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

Dr Slobodanka Vakanjac, redovni profesor,
Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

Dr Jelena M. Aleksić, viši naučni saradnik,
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo (IMGGI),
Univerzitet u Beogradu