

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

**Предмет: Извештај комисије за оцену урађене докторске дисертације
мр Весне Перић**

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, од 29.09.2015. године, именована је Комисија за оцену и одбрану урађене докторске дисертације, под насловом: „Анализа генетичке дивергентности генотипова соје на основу морфолошких и молекуларних маркера“. Комисија у саставу: др Гордана Шурлан Момировић, редовни професор у пензији, др Томислав Живановић, редовни професор, др Снежана Младеновић Дринић, научни саветник Института за кукуруз „Земун Поље“, др Ана Николић, научни сарадник Института за кукуруз „Земун Поље“ и др Мирослав Зорић, виши научни сарадник Института за ратарство и повртарство у Новом Саду, прегледала је и оценила докторску дисертацију подносећи следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација мр Весне Перић написана је на 223 стране и садржи 22 табеле, 41 графикон и 6 слика. У дисертацији су цитирана 394 извора литературе.

Докторска дисертација садржи: Насловну страну на српском и енглеском језику; Информације о ментору и члановима комисије; Резиме на српском и енглеском језику; Садржај; Текст по поглављима: Увод (стр. 1-2), Преглед литературе (стр. 3-30) са шест потпоглавља (стр. 3; стр. 4-5; стр. 6-8; стр. 8-9; стр. 9-25; стр. 26-30), Научни циљ истраживања (31-32) са два потпоглавља (стр. 31 и стр. 32), Материјал и метод рада (стр. 33-41) са четири потпоглавља (стр. 33-36; стр. 37-42; стр. 42-44; стр. 44-53), Резултати и дискусија (стр. 54-171) са четири потпоглавља (стр. 54-71; стр. 72-156; стр. 157-177), Закључак (стр. 178-183) Литература (184-216), и Прилог (217-223); Биографију аутора; Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјаву о коришћењу.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

У *Уводном* поглављу истакнут је значај соје као гајене биљне врсте који произилази из квалитета њеног зрна, уз навођење површина на којима се гајила у Србији у 2013-ој години и просечног оствареног приноса зрна. Иако је континуираним процесом оплемењивања кроз деценије постигнут значајан напредак у висини приноса соје, савремене студије указују да би плато приноса ускоро могао бити достигнут, што би угрозило светску проитводњу хране, те је неопходно проналажење нових извора варијабилности у оквиру генетичких ресурса у светским колекцијама гермплазме соје, како би се обезбедио даљи прогрес у оплемењивању на принос зрна, и агрономски и технолошки значајне особине. Савремене оплемењивачке процедуре, јак селекциони притисак, селекција на исте циљеве, интензивна агротехника, конкуренција између селекционерских установа и систем регистрације сорти доводе до гајења малог броја високо-приносних сорти редукованог генетичког диверзитета и високе међусобне униформности, чиме се повећава генетичка рањивост, тј. неспособност превазилажења биотичког и абиотичког стреса, што може имати девастирајуће последице на укупан светски генофонд соје, имајући у виду појаву нових раса патогена и врста инсеката и глобалне климатске промене. За превазилажењена наведених проблема, потребно је одржавање и побољшавање постојећег диверзитета кроз колекционирање, евалуацију и ефикасно искоришћавање гермплазме у колекцијама. Иако светски генофонд соје обхвата више од 150 000 узорака, свега 1% се практично користи у програмима оплемењивања.

Предуслов за ефикасно коришћење гермплазме је њена евалуација, познавање нивоа генетичке и фенотипске сличности и идентификација алела агрономски значајних особина код генотипова у колекцији. С обзиром да до сада није вршена систематска и прецизна евалуација генотипова соје у колекцији Института за кукуруз „Земун Поље“, очекује се да ће резултати овог рада помоћи у сагледавању нивоа диверзитета у наведеној колекцији, и избору генотипова агрономски пожељних особина за будући програм оплемењивања.

У **Прегледу литературе**, наведени су литературни подаци из области која је предмет проучавања докторске дисертације, подељени у шест потпоглавља. У првом потпоглављу, кандидаткиња је изнела податке о примарним и секундарним центрима доместификације од дивљег претка, и ширењу гајене соје у Европу и Америку. У другом потпоглављу, сагледани су главни фактори који су допринели сужавању генетичке основе соје: самооплодња, рана доместификација, оснивачки догађаји услед географског померања, вештачка селекција и укрштање у оквиру елитног материјала. У трећем потпоглављу, кандидаткиња износи податке о светским колекцијама соје, бројности колекција, пореклу материјала као и информације о доприносу предачких генотипова у генетичкој основи појединих колекција. У четвртном потпоглављу истакнут је значај евалуације материјала у колекцијама. Фенотипска евалуација представља опис агрономски значајних особина и дескриптивних морфолошких карактеристика и идентификацију генотипова носилаца специфичних особина, док евалуација на молекуларном нивоу омогућава утврђивање разлика на нивоу генома и мапирање гена од значаја. Евалуација омогућава класификацију материјала у групе према циљевима оплемењивања, и формирање језгровних (*core*) колекција, олакшавајући селекционерима избор, као и процену егзотичног материјала, који упркос слабој адаптацији, може бити драгоцен извор за оплемењивање на специфичне особине. У петом потпоглављу размотрен је значај морфолошких дескриптора и агрономских особина у процени диверзитета. Иако се ове особине по некима ауторима сматрају само индиректним показатељем диверзитета на генетичком нивоу, с обзиром на полигену природу наслеђивања, јак утицај спољашње средине на њихову експресију и субјективност посматрача приликом доношења оцена, тренд њиховог коришћења ће се сигурно наставити, поготову када се ради о обимном материјалу о којем се мало зна. У оквиру овог потпоглавља, кандидаткиња даје преглед литературе која се односи на генетичку контролу наслеђивања и индексе диверзитета 16 морфолошких дескриптора који су коришћени у процени диверзитета испитиваних генотипова соје. Студије диверзитета на основу морфолошких дескриптора показују да структура груписања најчешће сагласна са географском пореклу генотипова, с обзиром да оплемењивачки програми појединих региона стварају сорте у складу са агроколошким условима и навикама становништва дате географске регије. У другом делу овог потпоглавља, кандидаткиња наводи сазнања из литературе о генетичкој контроли и варијабилности 8 агрономски значајних особина, и преглед резултата студија диверзитета генотипова соје на основу агрономских особина. Наведене студије доминантно показују да је модел груписања на основу агрономских особина високо сагласан подацима о групи зрења, потврђујући да је разлика у дужини вегетационог периода најбољи индикатор фенотипског диверзитета генотипова соје. У шестом потпоглављу, кандидаткиња износи предности микросателитских маркера (*SSR*) у проучавању диверзитета соје, истичући њихову мултиталетну природу, кодоминантно наслеђивање, релативно обиље, широку покривеност генома, високу репродукцибилност, као и чињеницу да је овај тип маркера најчешће изван утицаја селекције детектујући полиморфизам неутралних региона који се фенотипски не експримирају. У груписању на основу *SSR* анализе углавном доминира географска компонента молекуларног диверзитета као и груписање у складу се педигреом.

У **Научним циљевима истраживања** кандидаткиња је дефинисала да су циљеви истраживања: евалуација фенотипске варијабилности генотипова соје колекције Института за кукуруз „Земун Поље“ на основу морфолошких дескриптора и агрономски значајних особина, карактеризација генотипова на молекуларно-генетичком нивоу

применом *SSR* маркера, процена диверзитета генотипова и анализа гуписања применом мултиваријационих метода, упоређивање ефикасности коришћених типова маркера (морфолошки дескриптори, агрономски значајне особине и молекуларни маркери) у дескрипцији, идентификацији и диференцијацији генотипова соје, и избор генотипова од значаја за оплемењивање на агрономски важне особине.

У **Основним хипотезама** кандидаткиња је пошла од претпоставке да сет од 90 генотипова одабраних из колекције Института за кукуруз „Земун Поље“ представља репрезентативан узорак за оцену диверзитета колекције. Одабрани генотипови потичу из 15 земаља света и представљају 5 група зрења прилагођених нашим агроколошким условима. Информације добијене на основу фенотипске евалуације послужиће за сагледавање дивергентности генотипова на фенотипском нивоу. Очекује се да ће молекуларна анализа дати прецизнију слику о полиморфизму испитиваних микросателитских локуса и генетичкој диференцијацији генотипова. Претпоставка је да ће три метода карактеризације показати одређени ниво сагласности са подацима о педигреу и географском пореклу, и да ће резултати указати на ефикасност примењених приступа у процени диверзитета, дескрипцији и диференцијацији генотипова и помоћи у избору најпогоднијег метода. Анализа података из двогодишњих огледа на две локације би требало да идентификује генотипове супериорне за одређене агрономске особине и допринесе ефикаснијем избору родитељских парова за укрштања.

У оквиру поглавља **Материјал и методе рада** Весна Перић је представила биљни материјал коришћен у истраживању, који се састојао од 90 генотипова соје пореклом из различитих оплемењивачких програма 15 земаља света. Генотипови се разликују по дужини вегетационог периода, агрономски важним особинама, морфологији, педигреу, присуству егзотичне гемплазме у генетичкој основи и појединим специфичним својствима. Експериментални материјал класификован је према групи зрења, чиме је формирано пет упоредних огледа, постављених на два локалитета (Земун Поље и Панчево), у току две вегетационе сезоне (2011 и 2012), у три понављања. У оквиру овог поглавља, приказани су и метеоролошки услови регистровани на наведеним локацијама у годинама испитивања. Кандидаткиња износи методологију морфолошке дескрипције, спроведене помоћу 16 дескриптора складу са UPOV техничким водичем за извођење DUS тестова за соју (хипокотил-обојеност антоцијанима; хабитус биљке; тип пораста стабла; боја маља; набораност, облик, величина и интензитет боје бочне лиске; боја цвета; интензитет браон боје махуне; величина и облик семена; боја и сјај семењаче; боја хилума и хилумовог фуникла). У наставку поглавља, кандидаткиња је представила агрономски значајне особине анализирани у оквиру агрономске евалуације проучаваних генотипова: висина биљке, број нодуса на главном стаблу, број махуна, број зрна, маса 1000 зрна, принос зрна по биљци, и садржај уља и протеина у зрну. У наставку потпоглавља описане су методе којима је извршена изолација DNK и спроведена молекуларна карактеризација испитиваних генотипова помоћу *SSR* маркера. Последњи део поглавља представља статистичку анализу података добијених морфолошким дескрипцијом, евалуацијом агрономских особина и молекуларном карактеризацијом 90 генотипова соје.

У поглављу **Резултати и дискусија**, кроз 4 потпоглавља су представљени и интерпретирани резултати истраживања, уз упоређивање са резултатима аутора који су радили на истој или сличној проблематици. Дискусија је поткрепљена литературним наводима, који указују на исте и/или сличне резултате, или пак супротне од добијених.

У потпоглављу **Варијабилност морфолошких дескриптора и дивергентност генотипова соје**, у првој секцији **Дистрибуција и диверзитет морфолошких дескриптора**, представљени су *Shannon*-ови индекси диверзитета (H') за сваки дескриптор, као мера разноврсности у броју категорија и у равнотежености дистрибуције генотипова по категоријама дескриптора. Висок диверзитет показали су дескриптори: боја маља, интензитет боје махуне и сјај семењаче ($H'=1$) и величина бочне лиске ($H'=0,98$) док су дескриптори тип пораста ($H'=0,56$), величина семена ($H'=0,22$) и боја семењаче ($H'=0,45$)

показали низак диверзитет. Просечан индекс износио је 0,80, индикујући висок морфолошки диверзитет испитиваних генотипова, углавном већи него у истраживањима других аутора, што је и очекивано с обзиром да су у испитивање укључене не само само комерцијалне сорте и елитне линије, већ и интродуковани варијетети и егзотична гермплазма специфичних морфолошких профила. У оквиру друге секције *Анализа хомогености (HOMALS) генотипова соје на основу морфолошких дескриптора*, применом мултиваријационе HOMALS анализе извршена је идентификација дескриптора највеће дискриминационе моћи и сагледана структура груписања генотипова добијена наведеном анализом. Према дужини вектора дескриптора, утврђено је да боја хилума, боја семењаче, боја маља и интензитет боје махуне најбоље дискриминишу генотипове, па су ови дескриптори важни маркери у класификацији гермплазме, формирању *core* колекција, као и систему регистрације сорти и заштите права оплемењивача посебно код биљних врста ограничене генетичке варијабилности. Анализа груписања на основу морфолошких дескриптора раздвојила је генотипове дуж прве димензије по боји хилума, боји маља, типу пораста стабла и интензитету боје листа, а дуж друге димензије према боји махуне и боји семењаче. Тако је формирано 6 група генотипова сличних морфолошких профила. Анализа хомогености груписала је генотипове у већем степену према морфолошкој сличности и генетичкој повезаности него према географском пореклу. Одсуство географске компоненте варијабилности тумачи се чињеницом да проучавани дескриптори најчешће нису директан предмет селекције и да међу њима нема билошке повезаности, па се иста структура варирања може пронаћи код генотипова различитих програма оплемењивања из различитих географских региона. Конзистентно груписање у односу на педигре запажено је само код једне, од шест утврђених група, и било је више заступљено на нивоу појединачних парова генотипова него на нивоу група у целини. У оквиру треће секције *Кластер анализа генотипова соје на основу морфолошких дескриптора*, сагледане су генетичке дистанце генотипова и модел груписања добијен кластер анализом. Најмања генетичка дистанца (GD) утврђена је за парове генотипова Apache - Harosoy, Бачка - Колубара, и Harosoy-KB 231 (0,063). Највећа GD (1,00) израчуната је за парове Sanatto-L 7/88 и Shine-PI 416 892. Просечна GD свих парова генотипова на основу морфолошких дескриптора износила је 0,517. Генотипови су, према боји цвета и хипокотила, формирали 2 главне групе, у оквиру којих се даље диференцирао већи број субкластера, према типу пораста и боји маља. Већина генотипова није показала конзистентно груписање према региону порекла. Груписање генотипова у складу са педигреом могло се уочити само за појединачне парове генотипова или малобројне, слабо-конзистентне групе у оквиру субкластера. Испитивани генотипови су углавном индиректни потомци појединих родитељских генотипова у анализи, па њихов фенотип чине рекомбинација категорија дескриптора свих генотипова који су учествовали у њиховом стварању.

У другом потпоглављу *Варијабилност агрономских особина и дивергентност генотипова соје*, у оквиру прве секције *Дескриптивни статистички показатељи проучаваних особина*, дати су резултати анализе варијансе мешовитог модела за осам агрономских особина, резултати тестирања значајности разлика међу генотиповима по групама зрења и приказ разлика међу групама зрења за проучаване агрономске особине.

Анализом варијансе мешовитог модела утврђена је висока статистичка значајност ($p < 0,01$) свих извора варијације код генотипова свих група зрења за све особине. За висину стабла и број нодуса код генотипова групе зрења 00, 0, I и II спољашња средина била је доминантни извор варијације, док је у групи зрења III највећи део варијације наведених особина резултат генотипа. Код свих група зрења, варирање броја махуна и зрна, и приноса зрна било је доминантно условљено факторима спољашње средине. Варијација масе 1000 зрна је код генотипова групе зрења 00 и 0 највећим делом била резултат утицаја спољашње средине, код генотипова групе зрења I и II утврђен је сличан ефекат генотипа и спољашње средине, док се код групе зрења III највећи део варирања приписује генотипским разликама. У укупној варијацији садржаја протеина у зрну, код

генотипова групе зрења 00 генотип и спољашња средина су подједнако учествовали, док је код осталих група спољашња средина била најважнији извор варијације. Варирање садржаја уља код генотипова групе зрења 00 било је резултат једнаких ефеката генотипа и спољашње средине, док је код а група 0, I и II утврђен највећи ефекат средине. Варијација садржаја уља код генотипова групе III претежно се приписује утицају генотипа. За све особине и групе зрења најмањи ефекат имала је интеракција генотип × спољашња средина.

Tukey-евим тестом утврђене су значајности разлика проучаваних особина код генотипова у оквиру група зрења. Генотипови носиоци максималних вредности особине углавном су се статистички значајно разликовали ($p < 0,05$) од осталих у групи. У оквиру групе зрења 00, маса 1000 зрна варирао је од 71,4 g (Mini Soja) до 204,4 g (Kabott). Најмањи принос зрна по биљци остварио је генотип Canatto (7,1 g) а највећи сорта Крајина (13,6 g). Садржај протеина био је најмањи код Gi 291/70-79 (37,3%) а највећи код генотипова Mini Soja (43,2%), Progres (42,8%) и Canatto (42,6%). Најнижи садржај уља синтетисао је генотип Mini Soja (15,6%) а највећи сорта Agassiz (21,4%). У групи зрења 0, маса 1000 зрна имала је најнижу вредност код генотипа Kanadska 1 (125,6 g), а највећу код генотипа K-1 (206,1 g). Генотип Turska 2 остварио је најмањи принос зрна по биљци (10,2 g), а генотип K 2 2 највећу вредност особине (18,9 g). Садржај протеина кретао се од 36,6% код K 2 2, до 41,3% код генотипа K-1. Најмањи садржај уља измерен је код сорте Ауга (19,1%), док су највећи садржај уља имали генотипови Јулијана и F01-484 (21,9%). Међу генотиповима групе зрења I, најмању масу 1000 зрна остварио је генотип Chornaја (137,9 g), а највећу сорте Балкан (201,8 g) и Ardin (201,6 g). Најмањи принос зрна по биљци забележен је код генотипа Chornaја (9,4 g), док је сорта Балкан имала највећу вредност особине (15,9 g). Најмањи садржај протеина измерен је код сорте Ardin (36,4%), а највећи код генотипа Danijela (42,4%). Садржај уља варирао је од 17,5% (Danijela) до 21,9% (Shine). У оквиру групе зрења II, маса 1000 зрна била је најмања код сорте Војвођанка (145,0 g) а највећа код генотипова Harosoy (188,2) и Kineska (188,8 g). Највећи принос зрна по биљци остварила је сорта Vertex (17,4 g), а најмањи сорта Corsoy (12,3 g). Садржај протеина кретао се од 36,3% код сорте Beauty, до 39,9% код сорте Harosoy. Најмањи садржај уља измерен је код сорте Corsoy (19,4%) а највећи код генотипа Lana (22,0%). У групи зрења III, маса 1000 зрна варирао је од 123,6 g (Barc 11-X) до 370,7 g (PI 416 892). Најмањи принос зрна по биљци остварио је генотип Elf (13,2 g) а највећи генотип PI 416 892 (18,7 g). Најмањи садржај протеина имао је генотип Hobbit (36,3%), а највећи генотип PI 416 892 (40,0%). Садржај уља варирао је од 16,4% код генотипа PI 416 892 до 21,9 (Sprite) и 22,0% (Hobbit). Генотип PI 416 892 имао је значајно већу ($p < 0,05$) масу 1000 зрна, принос зрна и садржај протеина у односу на све генотипове у групи.

Разлике група зрења за проучавање агрономске особине приказане су у форми бокс-плот дијаграма, који су послужили за сагледавање медијана, интерквartilних разлика и интервала варирања агрономских особина по групама зрења. Посматране групе углавном су се разликовале за све проучаване особине, показујући тренд пораста вредности медијане за компоненте приноса и принос зрна са порастом дужине вегетације, односно тренд смањења медијане садржаја протеина са порастом дужине вегетације, док се за садржај уља уочава слична вредност медијане код већине испитиваних група зрења.

У другој секцији другог потпоглавља *Међузависност особина по групама зрења* анализирани су *Pearson*-ови коефицијенти корелације између 8 агрономских особина по групама зрења. За све групе, утврђена је негативна корелација садржаја уља и протеина, уз разлике у висини и значајности коефицијента. Принос зрна по биљци био је у негативној асоцијацији са садржајем протеина и позитивној корелацији са садржајем уља код већине група. Значајност, висина и смер повезаности приноса и компоненти приноса варирао је зависно од групе зрења, рефлектујући сложене корелативне односе између компоненти.

Трећу секцију другог потпоглавља представља *Приказ паралелних координата*. Наведени приказ послужио је као увод у мултиваријациону анализу генотипова и особина, дајући додатни увид у структуру варијације агрономских особина, визуализујући

међузависност особина и идентификујући генотипове екстремних вредности особине, што је датаљније сагледано у наредној секцији овог потпоглавља.

У оквиру четврте секције другог потпоглавља - *Мултиваријационе методе у анализи груписања генотипова на основу агрономских особина*, анализирана је структура груписања генотипова добијена анализом главних компонената (*Principal Component Analysis- PCA*) и кластер анализом. *PCA* анализа по групама зрења примењена је у циљу упоређивања и идентификације генотипова супериорних за већи број агрономских особина. У групи зрења 00, сорте највећег приноса зрна по биљци Крајина (13,6 g), Korana (12,2 g) и Ljusо (11,8 g) имале су и већи број махуна (35,4-37,6) и зрна (76,6-78,0) од просека групе, и умерено високу вредност масе 1000 зрна. Сорте Крајина била је истовремено интермедијарна за садржај протеина (40,1%), па се може користити за оплемењивање на принос, уз одржање садржаја протеина на задовољавајућем нивоу. Генотип Мини Соја формирао је највећи број махуна (52,5) и зрна по биљци (107,7) али се због изузетно ниске масе 1000 зрна (71,4 g) сврстао међу генотипове најнижег приноса. Генотипови који су се издвојили по високом садржају протеина Mini Soја (43,2%), Progres (42,8%) и Canatto (42,6%), истовремено су имали и најмањи садржај уља (15,6-17,4%) и најнижи принос зрна по биљци (7,1-9,3 g). Генотип Kabott остварио је највећу масу 1000 зрна (204,4 g), висок садржај протеина (41,6%) и интермедијаран принос зрна па се може користити у оплемењивање на величину зрна и садржај протеина уз одржање приноса у нивоу просека сорти веома ране вегетације.

У оквиру групе зрења 0 уочава се груписање генотипова ниске масе 1000 зрна, високог садржаја уља и садржаја протеина изнад просека (Турска 2, Apache, Atlas и Lambert), који могу бити од значаја за оплемењивање на истовремено повећање обе компоненте, најчешће негативно корелисане. Генотип К-1 имао је највећи садржај протеина у зрну (41,3%) и највећу масу 1000 зрна (206,1 g), али је остварио и нижи принос зрна по биљци (11,7 g) и нижи садржај уља (19,8%) у односу на просек групе, па би се могао користити за оплемењивање на величину зрна и садржај протеина али не и принос зрна. Генотип К 2 2 формирао је највећи број махуна (46,6) и зрна по биљци (106,5), док је за масу 1000 зрна био интермедијаран (180,1), остваривши највећи принос зрна по биљци. Генотип Ланка је имао значајно већи број махуна (42,7), број зрна (85,6) и масу 1000 зрна (183,8 g) у односу на просек, и висок принос зрна по биљци (15,7 g), док је по садржају протеина био интермедијаран, представљајући користан извор гермплазме за оплемењивање на принос зрна преко три најважније компоненте. Генотип Р1 301 остварио је висок принос зрна по биљци (15,0 g), формирајући велики број крупнијих зрна по биљци, док је за број махуна био интермедијаран, па се сматра потенцијално корисним у оплемењивању на принос зрна преко компоненти приноса.

У групи зрења I, генотипови интермедијарни за већину особина (Hodgson 78 и Danubian) позиционирали су се у непосредној близини координатног почетка. Највећом масом 1000 зрна издвојиле су се сорте Балкан (201,8 g) и Ardin (201,6 g). Сорте Балкан формирала је већи број махуна (35,9) и број зрна по биљци (78,8) у односу на просек групе, остваривши и највећи принос зрна по биљци (15,9). Међу најприносније генотипове сврстале су се сорте Brock (15,5 g) и Parker (15,3 g), формирајући и већи број махуна и већу масу 1000 зрна у односу на просек, док су за број зрна били интермедијарни. Сорте Лаура, која је уз висок принос (15,3 g) имала и садржај протеина (39,5%) већи од просечног, представља извор гермплазме за побољшање обе особине

У оквиру групе зрења II сорте Лана и Лидија имале су највећи садржај уља у зрну (22,0 % и 21,7 %) и значајно већи принос зрна (16,3 g и 16,4 g) у односу на просек групе остварили, формирајући висок број махуна и зрна, док су за масу 1000 зрна биле интермедијарне. По приносу зрна, истакла се сорта Vertex (17,4 g), поседујући истовремено и висок број махуна (46,0) и зрна по биљци (97,9), и високу масу 1000 зрна (178,7 g), па би се овај генотип могао користити у селекцији на принос преко наведених компоненти, које су често негативно корелисане. Сорте Војвођанка је, упркос најнижој

маси 1000 зрна, формирала принос знатно већи од просека групе (16,0 g), захваљујући великом броју махуна и зрна по биљци. Код сорте Нена, утицај ниске масе 1000 зрна компензован је великим бројем махуна и зрна по биљци, па се наведена сорта сврстала међу најприносније у групи, са приносом 16,5 g. Садржај протеина генотипова Kineska (39,5%), Gnome (39,4%) и Harosoy (39,9%) био је већи у односу на просек групе, при чему су Gnome и Harosoy имали масу 1000 зрна изнад просека групе, а генотип Kineska интермедијаран принос, па се могу корисити у оплемењивању на садржај протеина без веће редукције приноса (Kineska), односно масе 1000 зрна (Gnome и Harosoy).

У оквиру групе зрења III, највећим бројем махуна и зрна по биљци истакао се генотип Barc 11-X, који је упркос најнижој маси 1000 зрна остварио принос изнад просека групе, уз истовремено поседовање и високог садржаја уља. Генотипови Hobbit, Sprite, Elf и Pixie воде порекло из истог укрштања, па је њихово блиско груписање на основу агрономски значајних особина било и очекивано. Сви осим генотипа Pixie имали су висок садржај уља (20,5-22,0%), док су за остале особине били углавном интермедијарни. Крупносемени генотип PI 416 892 остварио је највећи принос зрна по биљци (16,4 g), највећи садржај протеина (40,0%) и највећу масу 1000 зрна (370,7 g). С обзиром да генотипови ове групе у својој генетичкој основи имају одређени проценат егзотичне гермплазме, идентификација суперионих генотипова показује да генотипови са претпостављеном слабијом адаптацијом на локалне агроеколошке услове, могу представљати драгоцен извор за оплемењивање на агрономски важне особине.

РСА анализом 90 генотипова свих група зрења на основу 8 агрономских особина, утврђено је да у структури груписања доминира груписање у складу са припадношћу групи зрења, премда дужина вегетације није била укључена у анализу. Особине које су најчешће позитивно корелисане са дужином вегетације (висина стабла, број нодуса, број махуна, број зрна, принос зрна и садржај уља) утицале су на раздвајање генотипова дуж РС 1 осе, тако да се генотипови мањих вредности особина налазе на левој, а генотипови већих вредности особина на десној страни графикана. Генотипови су се по садржају протеина раздвојили највећим делом дуж РС 1 осе. Генотипови најкраће вегетације (група зрења 00) имали највећи садржај протеина. Маса 1000 зрна дискриминисала је генотипове по РС 2 оси. Генотипови групе зрења III су показали слабу конзистенцију груписања у односу на дужину вегетације, распоређујући се међу генотипове осталих група.

Кластер анализа проучаваних генотипова показала је да генотипови исте групе зрења показују тенденцију груписања у исте субкластере. У структури дендрограма уочава се подела генотипова на два главна кластера (I и II), која одговара подели на ране и средње ране (кластер I), односно касне сорте (кластер II). У структури кластера, уочава се тенденција груписања генотипова из исте групе зрења у исти подкластер иако дужина вегетације није била укључена у анализу. Овакав модел груписања је био и очекиван, с обзиром да група зрења одређује све фазе развоја биљке, утичући на дужину вегетативне и репродуктивне фазе, формирање компоненти приноса и акумулацију протеина и уља у зрну. Одсуство географског обрасца фенотипске варијације објашњава се чињеницом да су изабрани генотипови, иако пореклом из различитих географских региона, ипак представљали узак опсег група зрења (00- III) које су прилагођене нашим агроеколошким условима, као и чињеницом да посматрани географски региони, иако удаљени, нису представљали еколошки контрастне средине, бар у погледу дужине фотопериода. Груписање генотипова показало је слабу сагласност са педигре подацима, уз изузетак мањег броја слабо конзистентних субкластера које чине генотипови сличног педигреа.

У петој секцији другог потпоглавља - *Анализа интеракције генотип × спољашња средина за најважније агрономске особине применом линеарно-билинеарног АММI-I модела* извршена је оцена стабилности генотипова по групама зрења за принос зрна по биљци, садржај протеина и садржај уља у зрну. У свакој групи идентификовани су генотипови изнадпросечне вредности особине и високе стабилности који могу бити од значаја за креирање родитељских комбинација за будућа укрштања. У групи зрења 00,

сорте Korana и Крајина имале су изнадпросечан принос високе стабилности, с обзиром да представљају домаће сорте, добро прилагођене на наше агроеколошке услове. Високим и стабилним садржајем протеина издвојили су се генотипови Kabott и Canatto, а високим стабилним садржајем уља сорте Maple Presto, Ljuso и Agassiz. Са оплемењивачког аспекта, најзначајнији генотипови у групи зрења 0 су генотипови са приносом изнад општег просека који су испољили и мањи степен осетљивости на промене у условима спољашње средине (Афродита, Chandor и PI 301), те генотипови високог и стабилног садржаја протеина (FS 2 78, Kanadska 1 и K-1) и садржаја уља (Julijana и F01-484). У групи зрења I, сорте високог и стабилног приноса зрна биле су Равница и А 1937. Изнадпросечан стабилан садржај протеина утврђен је једино код сорте Krizia, док је код осталих генотипова изнадпросечног садржаја протеина висока вредност интеракцијске компоненте указивала на њихову специфичну прилагођеност мањем броју средина. Високим и стабилним садржајем уља издвојили су се А 1937, Hodgson 78 и Shine. Већи број генотипова групе зрења II имао је високу вредност интеракције за принос зрна, која указује на слабу стабилност приноса касних сорти. Највећи принос зрна оствариле су сорте из домаћих програма селекције, показујући истовремено уску прилагођеност мањем броју средина. За садржај протеина, стабилну реакцију на промене услова спољашње средине показао је мањи број генотипова изнадпросечне вредности особине (Olga, Nena, Gnome, HS 320 и Dekabig), док су висок и стабилан садржај уља имали домаћи генотипови Лана, Лидија и Волођа. У групи зрења III, изнадпросечан принос задовољавајуће стабилности имали су генотипови Варс 11-Х и PI 416 892, оба настала оплемењивањем уз употребу егзотичне гермплазме. Сви генотипови су испољили изразиту нестабилност садржаја протеина кроз 4 средине, па нису идентификовани потенцијални извори за оплемењивање на ово својство. Сорте Hobbit и Sprite имале су изнадпросечан садржај уља високе стабилности. Група зрења III, иако сачињена углавном од генотипова са одређеним процентом егзотичне гермплазме у основи, ипак представља драгоцен извор у оквиру колекције, показујући супериорност и стабилност за принос зрна и садржај уља.

У трећем потпоглављу *Генетичка дивергентност генотипова соје на основу SSR маркера*, у оквиру 4 секције изложени су резултати молекуларне карактеризације. У првој секцији – *Полиморфизам SSR локуса*, интерпретирани су резултати молекуларне анализе извршене применом 21 SSR прајмера. Број фрагмената добијених амплификацијом кретао се од 2 до 6, уз просечан број од 2,8 трака по прајмеру. Укупан број амплификованих фрагмената износио је 59, од чега је 51 (86,44%) било полиморфно. Високе вредности полиморфизма маркера SSR (преко 85%) реферишу и други аутори закључујући да су SSR маркери информативно и ефикасно средство у проучавању диверзитета соје. Друга секција представља интерпретацију резултата *Кластер анализе*. Најмање вредности генетичке дистанце утврђене су између генотипова Dawson и Harosoy ($GD=0,000$), а потом и између генотипова Turska 1 и Turska 2 ($GD=0,170$). Највеће вредности генетичке дистанце утврђене су за пар Maple Arrow-Dekabig ($0,627$), као и пар PI 180 507- Am 3, и пар Kanadska 1 – Gnome ($0,593$). Просечна GD свих парова генотипова била је релативно ниска ($0,317$) и у сагласности са резултатима мањег броја аутора који су проучавали SSR полиморфизам соје, заснован на анализи мање бројних, локалних колекција. Највеће просечне вредности GD износе истраживања дивергентног материјала великих колекција или колекција из центара диверзитета соје (азијске колекције). У оквиру ове секције, детаљно је анализиран модел груписања генотипова уз осврт на педигре податке. Кластер анализа показала је одређени ниво сагласности са педигре подацима, али и подацима о географском пореклу, с обзиром да су се поједине мање групе генотипова одликовале већом бројношћу генотипова из одређеног географског региона. Издвајају се кластери Ia₂ и Ib сачињени претежно од канадских и европско-евроазијских генотипова, а у оквиру кластера Ia₁' две групе - група доминантно домаћих генотипова и група претежно америчких генотипова. У трећој секцији *Анализа главних координата (PcoA)*, кандидат наводи да је овом анализом утврђен исти модел груписања као и у кластер анализи, уз

одступања у груписању неколико парова генотипова, која се приписују разлици у методи две мултиваријационе анализе примењене на исти сет података. У четвртој секцији *Анализа молекуларне варијансе* анализиран је индекс диференцијације (F_{st}) генотипова 5 географских група (домаћи-DOM, европско-евроазијски-EEA, канадски-CAN, амерички-USA, егзотични-EGZ). У укупној варијацији, знатно веће варирање било је резултат диференцијације у оквиру група (93,9%), него диференцијације у између група (6,1%). Група канадских генотипова показала је статистички значајан и истовремено и највећи степен диференцијације у односу на остале географске групе (F_{st} од 0,09 до 0,19). Домаћи генотипови испољили су најмању диференцијацију у односу на америчке генотипове ($F_{st}=0,01$) од којих углавном и воде порекло, нису се значајно диференцирали у односу на европско-евроазијску групу ($F_{st}=0,03$) што указује на постојање размене материјала у оквиру широког региона Европе, док су се највише разликовали од егзотичних ($F_{st}=0,09$).

У четвртом потпоглављу *Сагласност резултата морфолошке дескрипције, евалуације агрономских особина и молекуларне карактеризације генотипова соје*, применом *Mantel* теста утврђена је позитивна, статистички значајна корелација између матрице удаљености добијене молекуларном анализом и матрице удаљености према морфолошким дескрипторима ($r=0,061$), несигнификантна и негативна корелација између матрица удаљености добијених на основу молекуларних маркера и агрономских особина ($r=-0,027$) и позитивна, високо значајна корелација између матрица удаљености добијених на основу морфолошких дескриптора и агрономских особина ($r=0,179$). Слаба сагласност матрица молекуларне и фенотипске удаљености указује да фенотипске карактеристике, посебно агрономске особине, нису поуздан параметар генетичког диверзитета популације.

У поглављу *Закључак* кандидаткиња је формулисала јасне и конкретне закључке, засноване на сопственим резултатима истраживања, од којих су најважнији:

Анализом 16 морфолошких дескриптора утврђен је висок ниво морфолошког диверзитета 90 генотипова соје, како према просечном *Shannon*-овом индексу диверзитета (0,80) тако и према вредности просечне GD (0,517). Анализом хомогености (*HOMALS*) утврђени су дескриптори највеће дискриминационе моћи (боја хилума, боја семењаче, боја маља и интензитет боје махуне) који се препоручују за ефикасну морфолошку идентификацију и диференцијацију сорти соје. Груписање на основу кластер анализе показало је већи степен сагласности са педигре подацима у односу на *HOMALS* анализу. Географска структура варијабилности изостала је код оба добијена модела груписања, указујући да географско порекло не може бити критеријум за поделу колекције на *core* сетове. *HOMALS* анализа била је ефикаснији метод за сагледавање морфолошке удаљености генотипова обезбеђујући већи степен издвајања у хомогене групе, идентификујући особине са највећим доприносом у разликовању генотипова и омогућујући разликовање фенотипски сличних варијетета који су се у кластер анализи блиско груписали.

Анализом варијансе утврђена је висока статистичка значајност свих извора варијације за све агрономске особине код свих група зрења. Спољашња средина била је доминантни извор варијације код већине особина, мања пропорција варирања се приписује утицају генотипа а најмања интеракцији генотип \times спољашња средина.

Груписање на основу агрономских особина применом *PCA* и кластер анализе показало је високу сагласност са подацима о дужини вегетације, потврђујући да је група зрења најбољи индикатор фенотипског диверзитета генотипова соје. Груписање генотипова показало је извесни степен сагласности и са педигре подацима, док се географска структура груписања није могла утврдити.

PCA анализом по групама зрења идентификовани су генотипови супериорни за већи број агрономских особина, од значаја за оплемењивање на истовремено побољшање више особина, што је посебно важно код негативно корелираних особина. За оплемењивање на принос преко компоненти приноса препоручују се генотипови: Крајина, Korana, Ljusо K 2 2, Vertex, Војвођанка, Нена, Балкан, Ardin, Brock и Parker, за оплемењивање на садржај

протеина Mini Soja, Progres, Kineska, PI 416 892 и Canatto, за оплемењивање на повећање масе 1000 зрна и садржаја протеина Kabott, Gnome, K-1 и Harosoy, за оплемењивање на висок принос и висок садржај протеина Лаура, за оплемењивање на истовремено повећање садржаја протеина и уља Турска 2, Apache, Atlas и Lambert, а за оплемењивање на принос и садржај уља Лана, Лидија и Варс 11-X. Анализом стабилности применом АММИ-1 модела за већину наведених генотипова утврђена је висока стабилност особине.

Молекуларном анализом помоћу 21 *SSR* прајмера, утврђен је висок полиморфизам *SSR* локуса (86,44%), потврђујући предност *SSR* маркера у односу на остале молекуларне маркере који се користе у студијама диверзитета. Модел груписања добијен кластер анализом на основу генетичких дистанци из *SSR* анализе је боље кореспондирао са педигре подацима у поређењу са анализом груписања на основу фенотипских особина. Анализом молекуларне варијансе утврђено је веће унутаргрупно (93,9%) у односу на међугрупно (6,1%) варирање, сугеришући да посматране групе поседују генетички сродан материјал, али и да свака група располаже довољном варијабилношћу која може бити употребљена у даљем програму оплемењивања. Канадски генотипови показали су највећи степен диференцијације у односу на остале географске групе, представљајући извор дивергентног материјала за креирање нових комбинација укрштања. Најмања просечна генетичка дистанца утврђена је на основу агрономски значајних особина (0,244), већа на основу молекуларних маркера (0,317) а највећа на основу морфолошких дескриптора (0,517). С обзиром да је колекција соје Института за кукуруз „Земун Поље“ мања, локална колекција, добијени ниво диверзитета може се сматрати задовољавајућим. Ипак, у циљу обезбеђивања дугорочног напретка у оплемењивању, потребна је интрогресија гена из нових извора варијабилности, односно проширивање материјала у колекцији.

Слаба сагласност матрица молекуларне и морфолошке ($r=0,061$) и молекуларне и агрономске ($r=-0,027$) удаљености сугерише да фенотипске карактеристике, а посебно агрономске особине не могу представљати поуздан параметар диверзитета генотипова на генетичком нивоу. Три типа података показала су и релативну сагласност са подацима о педигреу, па би се, имајући све претходно у виду могло закључити да анализа молекуларног и фенотипског диверзитета даје различите али комплементарне информације, од којих свака има значај у оплемењивачкој пракси.

У поглављу *Литература* наведен је списак од 394 референце коришћене као основ за примењене методе истраживања и за поређење резултата са другим истраживањима, сложене по абecedном реду и написане у складу са стандардима за навођење.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација мр Весне Перић, представља оригинални самостални научни рад из генетике и оплемењивања соје. Основни циљ дисертације био је да се применом три типа маркера (морфолошки дескриптори, агрономске особине и *SSR* маркери), изврши систематска и прецизна карактеризација генотипова соје у колекцији Института за кукуруз „Земун Поље“, сагледа ниво диверзитета у колекцији, и идентификују генотипови агрономски пожељних особина за будући програм оплемењивања.

Општи ниво диверзитета у колекцији утврђен на основу три типа маркера био је задовољавајући, али је за напредак у оплемењивању потребно проширивање материјала у колекцији. Идентификовани су генотипови супериорни за већи број агрономских особина и високе стабилности који се препоручују као родитељске компоненте у наредном програму оплемењивања. Проучавани маркери дали су различите али комплементарне информације о дивергентности генотипова у колекцији. У циљу прецизније генетичке карактеризације и доношења тачнијих закључака о нивоу општег диверзитета материјала из колекције, у будућим истраживањима требало би доминантно користити молекуларне маркере, при чему се у избору треба руководити информацијом о нивоу њиховог полиморфизма као и степену повезаности са локусима агрономски значајних особина.

Оцењујемо да је мр Весна Перић примењујући одговарајуће методе и технике у оквиру постављеног циља и програма рада, успешно обавила експериментални део истраживања, прикупила податке, применила адекватне статистичке методе за анализу и оценила добијене резултате. Дискусија је изведена успешно, поређењем резултата кандидата са резултатима добијених из претходних проучавања исте проблематике. Закључци су правилно изведени на основу резултата истраживања и дискусије. Сlike, графикони и табеле у дисертацији су прегледно приказани. Текст је јасан и читак.

На основу свега претходно наведеног, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију мр Весне Перић под насловом: „Анализа генетичке дивергентности генотипова соје на основу морфолошких и молекуларних маркера“, и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да усвоји ову позитивну оцену и омогући кандидату јавну одбрану.

Београд, 05.10.2015.

Чланови комисије:

др Гордана Шурлан Момировић, редовни професор у пензији, Пољопривредни факултет Универзитета у Београду (ужа научна област Генетика)

др Томислав Живановић, редовни професор, Пољопривредни факултет Универзитета у Београду (ужа научна област Генетика)

др Снежана Младеновић Дринић, научни саветник, Институт за кукуруз „Земун Поље“ (ужа научна област Молекуларна генетика)

др Ана Николић, научни сарадник, Институт за кукуруз „Земун Поље“ (ужа научна област Молекуларна генетика)

др Мирослав Зорић, виши научни сарадник, Институт за ратарство и повртарство Нови Сад (ужа научна област Оплемењивање биљака и биоинформатика)

ПРИЛОГ:

Мр Весна Перић објавила је рад из области докторске дисертације који се налази на SCI листи:

Perić, V., A. Nikolić, V. Babić, A. Sudarić, M. Srebrić, V. Đorđević, S. Mladenović-Drinić (2014): Genetic relatedness of soybean genotypes based on agromorphological traits and RAPD markers. *Genetika* 46 (3): 839-854.

<http://www.dgsgenetika.org.rs/abstrakti/vol46no3rad17.pdf>