

МЕГАТРЕНД УНИВЕРЗИТЕТУ (Универзитет Џон Незбит)
ФАКУЛТЕТ ЗА БИОФАРМИНГ
БАЧКА ТОПОЛА

ЗАВРШНИ РАД НА СТУДИЈАМА ТРЕЋЕГ СТЕПЕНА ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

На основу одлуке Сената Универзитета од 24.09.2015. , пошто смо проучили урађену докторску дисертацију под називом:

УТИЦАЈ ПОЛИМОРФИЗМА ПРОТЕИНА МЛЕКА И ЊИХОВА ПОВЕЗАНОСТ СА ПРОИЗВОДНИМ ОСОБИНАМА МЛЕЧНИХ КРАВА У ГЕНОМСКОЈ СЕЛЕКЦИЈИ

кандидата: **МSc Драгомир Лукач** подносимо следећи:
(звање, име и презиме кандидата)

РЕФЕРАТ

1. Основни подаци о кандидату, докторској дисертацији/ уметничком пројекту

(Елементарни подаци о кандидату, наслову рада, обиму и библиографским подацима)

Кандидат **МSc Драгомир Лукач** је рођен 21. јануара 1985. године у Бања Луци, БиХ - Република Српска. Средњу Пољопривредно-прехранбену школу, смер Ветеринарски техничар је завршио 2004. године у Приједору. Пољопривредни факултет у Новом Саду, Смер за Сточарство, уписао је школске 2004/05 године, а завршио у октобру 2008. године одбранивши дипломски рада под називом „Репродуктивне перформанце првопраскиња и крмача виших паритета”. Након завршених основних студија, на истом факултету уписује и дипломске академске мастер студије, студијског програма за Сточарство, на којем положи све испите, пријављује и брани Мастер рад 2009. године под називом „Генетски и фенотипски параметри величине легла свиња парених у чистој раси и укрштањем”. Након завршених Мастер студија, уписује се на Докторске студије студијског програма Анимална Производња на Пољопривредном факултету, Универзитета у Новом Саду на којем је положио све испите предвиђене планом и програмом докторских студија. Трећу годину Докторских студија Факултета за Биофарминг у Бачкој Тополи уписује школске 2014/15. године, и завршава све предвиђене обавезе у року. У звање асистента је изабран 2010. године за научну област Генетика и Оплемењивање животиња на Пољопривредном факултету у Новом Саду, запослен са пуним радним временом, где изводи вежбе студентима на предметима из ове области: Оплемењивање животиња и Генетика животиња студентима сточарског смера, те Ветеринарску генетику студентима ветеринарске медицине. Неко време изводио је вежбе и из Сточарства студентима ветеринарске медицине. На мастер академским студијама изводи вежбе из предмета Квантитативна генетика, Генетика и биотехнологија у сточарству те Теорије оплемењивања и понашања животиња. Био је ментор већег броја научних радова студената. Један је од аутора уџбеника Генетика животиња намењен студентима сточарства и ветеринарске медицине, и монографије Генетски параметри. До сада је аутор или коаутор преко 100 научних радова објављених и домаћим и страним часописима, домаћим и међународним скуповима,

од којих је 15 публиковано у часописима са SCI листе. Тренутно је ангажован на два пројекта, чији су носилаци Технолошки факултет у Новом Саду, од којих је један финансиран од стране Министарства за науку у технолошки развој Републике Србије а други од стране Покрајинског секретеријата за науку и технолошки развој Аутономне покрајине Војводине.

Кандидат је завршио израду докторске дисертације под насловом: **“Утицај полиморфизма протеина млека и њихова повезаност са производним особинама млечних крава у геномској селекцији”**. Из резултата докторске дисертације, кандидат је објавио 5 радова у часописима са SCI листе:

1. **Лукач Д.**, Видовић В., Жолт Н., Ступар М., Поповић-Врањеш А. (2013): Genotypic frequencies of the β -lactoglobulin, κ -casein and transferrin in Serbian Holstein-Friesian dairy cattle. *Mljekarstvo*, 63 (4): 203-210.
2. Видовић В., Жолт Н., Поповић-Врањеш Анка, **Лукач Д.**, Цветановић Д., Штрбац Љ., Ступар М. (2013): Heritability and correlations of milk traits in the view of kappa - casein genotypes in Vojvodina Holstein-friesian dairy cattle. *Mljekarstvo*, 63 (2): 91-97.
3. **Лукач Д.**, Видовић В., Жолт Н., Zsolnai А., Bán В. (2014): Association of transferrin genotypes and production traits of Holstein-Friesian cows in Vojvodina. *Mljekarstvo*, 64 (2): 79-85.
4. Видовић В., **Лукач Д.**, Жолт Н., Тривуновић С. (2014): β -lactoglobulin genetic variants in Serbian Holstein-Friesian dairy cattle and their association with yield and quality of milk. *Animal Science Papers and Reports*, 32 (2): 179-182.
5. **Лукач Д.**, Јовановац С., Жолт Н., Видовић В., Поповић-Врањеш А., Рагуж Н., Лопичић-Васић Т. (2015): Association of polymorphism κ -casein gene with longevity and lifetime production of Holstein-Friesian cows in Vojvodina. *Mljekarstvo*, 65 (4): 232-237.

Дисертација је написана на укупно 204 стране, и садржи следећа поглавља: 1. УВОД (4 стране), 2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ (40 страна), 3. РАДНА ХИПОТЕЗА И ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА (2 стране), 4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА (8 страна), 5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА (75 страна), 6. ДИСКУСИЈА (19 страна), 7. ЗАКЉУЧАК (6 страна), 8. ЛИТЕРАТУРА (28 страна) и 9. БИОГРАФИЈА (2 стране). У тексту се налази 51 табела и 4 слике. Импресум рада садржи насловну страну, кључне документацијске информације (ii - xiii), Садржај (xiv-xvi), Извод (2 стране), Summary (2 стране) и Захвалност аутора (1 страна).

2. Предмет и циљ докторске дисертације/уметничког пројекта

На основу прикупљених, систематизованих и детаљно приказаних научних резултата из 203 литературна извора већином иностраних, али и домаћих, кандидат је јасно, концизно и логично дефинисао основне циљеве истраживања. Из резултата до којих су дошли други инострани аутори, кандидат је могао да стекне врло јасан и детаљан увид у досадашња научна сазнања у вези са полиморфизмом протеина млека и њиховом повезаношћу са производним особинама крава и употребом у геномској селекцији.

То је кандидту омогућило да јасно дефинише научно засновану проблематику и циљеве својих истраживања: идентификација фреквенције алела и генотипова β -лактоглобулина, κ -казеина и трансферина, те њихова повезаност и утицај на млечне и репродуктивне особина крава холштајн-фризијске расе говеда.

Преглед литературе кандидат је поделио на већи број важних поглавља, у којима је детаљно описао досадашње научне резултате везане за проблематику ове докторске дисертације.

Кандидат је истакао практичан значај своје докторској дисертацији, а то је селекција крава са пожељним генотиповима β -лактоглобулина, κ -казеина и трансферина, чиме би се на тај начин повећала фреквенција пожељних алела и генотипова у популацијама крава и тако обезбедио жељени генетски напредак у млечним особинама. Кандидат наводи да добијене генетске информације о полиморфизму гена могу бити коришћене у селекцији и укрштању приликом побољшање производних особина млечних говеда. Ове методе у комбинацији са традиционалним методама селекције, могу да буде ефикасан начин у побољшању квантитативних особина одређене популације крава. Селекција базирана на детектовању генетског полиморфизма појединих протеина млека и њихов појединачни утицај на производне особине, а затим увођењем пожељних генотипова крава у популацију, дошло би до повећања производних особина крава и прецизније селекције.

Кандидат у својој докторској дисертацији посебно истиче предности геномске селекције кроз побољшања стопе генетске добити у одгајивачким програмима млечног говедарства. Најважнији фактори који доприносе бржој генетској добити су повећање генетске тачности и прецизности код младих животиња; краћи генерацијски интервал коришћењем младих генетски супериорних мушких и женских животиња и повећање интензитета селекције с обзиром да одгајивачи могу да користе геномско тестирање веће групе потенцијално елитних животиња. Са повећањем прецизности и интензитета селекције, као и скраћења генерацијског интервала, стопа генетско прогреса за економски важне производне особине може бити јако велика.

Затим, кандидат истиче да би употреба полиморфних облика гена као генетских молекуларних маркера у млечном говедарству значајно смањила генерацијски интервал коришћењем младих генетски супериорних мушких и женских животиња са могућношћу повећања интензитета селекције, где би се узорци за ДНК анализу могли узети одмах након рођења, чиме би се омогућило тестирања великог броја биковских

мајки са циљем проналажења елитних грла која би се користила у даљим одгајивачким програмима. На тај начин би дошло до значајног повећања стопе генетског прогреса код млечних говеда.

Кандидат такође истиче да би генетска разноликост полиморфних облика протеина млека могла да служи као информативни маркер у истраживањима везаним за филогенетику и еволуцију раса на нашим просторима и да би слична истраживања могла бити изведена на молекуларном нивоу осталих раса говеда на нашем простору, укључујући и мале преживаре као што су овце и козе, с обзиром да су истраживања овакав тип јако мало рађена.

Из свега наведеног може се закључити да је реч о оригиналној идеји, изузетно значајној за развој савремених биотехнологија у сточарству наше земље, а посебно у области селекције и оплемењивања животиња.

3. Основне хипотезе од којих се полазило у истраживању

Кандидат је основне хипотезе од којих је полазио у истраживању рационално дефинисао на основу досадашњих сазнања, установљених из адекватно одабране научне литературе, као и на основу практичних искустава у вези са проблематиком дисертације.

На основу дефинисаних циљева истраживања, кандидат је пошао **опште хипотезе** у којој наводи да се очекује варијабилност различитих генотипова β – лактоглобулина, к - казеина и трансферина у испитиваној популацији крава која ће значајно утицати на варијабилност анализираних особина.

Након постављене опште хипотезе, кандидат је дефинисао и **већи број посебних хипотеза** о повезаности различитих генотипова протеина са производним особинама крава:

- различити облици генотипова β –лактоглобулина, к - казеина и трансферина ће значајно утицати на производне особине крава у погледу млечних особина;
- неће се установити значајније разлике између различитих генотипова протеина млека у погледу репродуктивних особина крава;
- установиће се знатно већи број хетерозиготних индивидуа у односу на хомозиготне индивидуе за анализирани протеини млека у посматраној популацији крава;
- знатно бољи производни резултати очекују се код крава хетерозиготног генотипа у односу на краве хомозиготног генотипа.

Кроз добијене резултате, хипотетички ставови кандидата од којих се пошло у овој докторској дисертацији су и потврђени, где су приказани адекватни и поуздани одговори.

Након завршених лабораторијско-молекуларних анализа, код к-казеина идентификована су три (АА, АВ и ВВ), код β - лактоглобулина такође три (АА, АВ и ВВ) и код трансферина десет (АА, D1D1, D2D2, ЕЕ, AD1, AD2, АЕ, D1D2, D1Е, D2Е) различитих генотипа са различитим фреквенцијама у испитиваној популацији крава, који су касније значајно утицали на варијабилност производних особина крава. У

посматраној популацији крава, идентификован је знатно већи број хетерозиготних крава у односу на број хомозиготних крава.

Између крава различитих генотипова к-казеина, β -лактоглобулина и трансферина су добијене значајне разлике код већине производних односно млечних особина. Тако су краве доминантног хетерозиготног АВ к-казеинског и β -лактоглобулинског генотипа оствариле највећи принос млека по лактацијама, док су краве рецесивног ВВ к-казеинског и β -лактоглобулинског генотипа оствариле најмањи принос млека по лактацији. Краве AD1, AD2, D1D2 и D2D2 трансферинског генотипа су биле далеко супериорније по количини млека у лактацијама и просечној количини млека у односу на краве других идентификованих генотипова.

Код већине репродуктивних особина нису установљене статистички значајне разлике између крава различитих генотипова к-казеина, β -лактоглобулина и трансферина.

Што се тиче укупне животне производње, краве АВ к-казеинског генотипа су оствариле најбољу животну производњу и забележиле најбоље резултате код свих посматраних особина, затим следе краве АА генотипа, док су краве ВВ генотипа оствариле најлошију животну производњу и забележиле најлошије резултате. Код лактоглобулина, краве АА β -лактоглобулинског генотипа су оствариле најбољу животну производњу и забележиле најбоље резултате, затим следе краве АВ генотипа, док су краве ВВ генотипа оствариле најлошију животну производњу и забележиле најлошије резултате. Краве АА, AD1, D2E, D1D2 и D2D2 трансферинског генотипа су у поређењу са кравама осталих генотипова трансферина, оствариле најбољу животну производњу и забележиле најбоље производне резултате.

Из свега горе наведеног, јасно и недвосмислено се види да су све постављене хипотезе у докторској дисертацији кандидата и научно потврђене.

4. Кратак опис садржаја

На почетку текста дисертације, кандидат је дао исправан и детаљан садржај појединих поглавља и подпоглавља, на која је подељен текст дисертације:

Кључна документацијска информација

Key word documentation

Списак публикованих радова у којима је приказан део резултата дисертације

Извод

Summary

1. УВОД

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2.1. Варијабилност квантитативних особина

2.1.1. Варијабилност особина млечности

2.2. Геномска селекција

2.2.1. Поступак генотипизације

2.2.2. Ланчана реакција полимеразом - PCR

2.2.3. Генетски маркери

2.2.4. Молекуларни ДНК маркери

- 2.2.5. Полиморфизам појединачних нуклеотида - SNP
 - 2.2.6. Идентификација локуса квантитативних својства – QTL
 - 2.2.7. Геномска оплемењивачка вредност
 - 2.3. Протеини млека
 - 2.4. Генетски полиморфизам протеина млека
 - 2.4.1. Полиморфизам протеина млека у селекцији и оплемењивању говеда
 - 3. РАДНА ХИПОТЕЗА И ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА
 - 3.1. Радна хипотеза
 - 3.2. Циљ истраживања
 - 4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА
 - 4.1. Број животиња и анализиране особине
 - 4.2. Лабораторијске анализе
 - 4.3. Израчунавање фреквенција генотипова и алела
 - 4.4. Статистичка обрада података
 - 5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА
 - 5.1. κ – казеин
 - 5.2. β -лактоглобулин
 - 5.3. Трансферин
 - 6. ДИСКУСИЈА
 - 6.1. κ – казеин
 - 6.2. β -лактоглобулин
 - 6.3. Трансферин
 - 7. ЗАКЉУЧАК
 - 8. ЛИТЕРАТУРА
- Листа скраћеница*
Списак табела
Списак графикана и слика
Биографија

Извод дисертације је кратак и прецизан, у коме је кратко и јасно описан проблем, циљ, претпоставке, материјал и метод, добијени резултати и основни закључак истраживања, са основним кључним речима. Сажетак је написан на српском, а абстракт на енглеском језику.

У **уводу**, кандидат је јасно истакао основни проблем истраживања, дефинисан на основу досадашњих сазања и резултата истраживања других аутора. Кандидат наводи да досадашња истраживања указују да различити облици појединих протеина млека утичу на производне особине млечних говеда и да могу бити један од критеријума селекције за унапређење производње млека. Утврђивањем полиморфних протеинских генотипова говеда и уградња генетског профила у одгајивачке програме је сигуран пут ка брзом генетском напредку и подизања производње млека и профитабилности фармера. Међутим, досадашњи резултати су веома оскудни, па је истакнута потреба за овом врстом истраживања у нашој земљи на домаћим популацијама крава. Дато је јасно и прецизно образложење научног и практичног доприноса резултата који се очекују у овом истраживању.

Поглавље **Преглед литературе** је подељено на већи број поглавља у којима су јасно и детаљно описана досадашња истраживања и добијени резултате у вези са

проблематиком ове докторске дисертације.

У поглављу **Радна хипотеза, циљ и задаци истраживања**, радне хипотезе су рационално дефинисане, на основу досадашњих сазнања установљених из адекватно одабране научне литературе која је везана за проблематику дисертације, а циљеви су јасно, концизно и логично дефинисани.

Поглавље Материјал и методе рада је системски, детаљно и јасно написано. Добро и правилно дефинисан план и програм експерименталних истраживања, исправно одабран узорак и број огледних животиња, као и примењене научно проверене и прихваћене методе, омогућавају добијање реалних, логичних и проверљивих резултата. Кориштена је адекватна методологија за статистичку обраду и презентацију добијених резултата.

У поглављу **Резултати истраживања** добијени резултати су приказани јасно, недвосмислено и илустративно, погодним и прегледним табелама. Примењена је адекватна статистичка анализа добијених резултата, на основу које су одређене статистичке значајности разлика резултата који су међусобно упоређивани, у зависности од генотипа анализираних протеина. Резултати, приказани табеларно су јасно и концизно објашњени и текстуално, са прецизним истицањем важних чињеница. Добијени резултати јасно показују да различити облици генотипова β – лактоглобулина, κ - казеина и трансферина значајно утичу на производне особине крвава, и да различити облици полиморфних гена као генетски молекуларни маркери могу бити један од критеријума селекције за унапређење говедарске производње. Овим налазима су, у потпуности, постигнути постављени циљеви и потврђене радне хипотезе ове дисертације.

У поглављу **Дискусија**, кандидат је детаљно и логички исправно објаснио резултате добијене у својим истраживањима. Своје резултате је коректно упоредио и продискутовао са резултатима које су добили други аутори у истраживањима сличне проблематике. Јасно је истакнут значајан утицај полиморфизама протеина млека и њихова повезаност са производним особинама крвава, и закључак да различити облици полиморфних гена као генетски молекуларни маркери могу бити један од критеријума селекције за унапређење говедарске производње. Осим тога, кандидат је јасно истакао и предности практичне примене добијених резултата, за побољшање производних особина крвава у савременој индустријској производњи. Правилно је дефинисао разлоге због којих добијени резултати показују да су остварени постављени циљеви и потврђене основне претпоставке (хипотезе) истраживања у дисертацији.

У **Закључцима**, кандидат је на основу добијених резултата извео детаљне и логичне закључке.

У списку **Литературе**, наводи су исправно цитирани: аутори, године, наслови, волумени, бројеви, странице и извори научних радова и других научних и стручних публикација. Укупно је цитирано 203 литературна извора, претежно страних аутора, који третирају проблематику врло сличну проблематици ове дисертације. Већина цитираних радова је објављен у међународним научним часописима са SCI-листе.

У **Биографији**, дати су сви релевантни лични и подаци о професионалном и научном раду, знањима и вештинама, које поседује кандидат.

5. Остварени резултати и научни допринос

На основу идентификованих генотипова κ -казеина, β -лактоглобулина и трансферина и њихове повезаности са производним особинама крава у овој докторској дисертацији, може се констатовати да различити генотипови ових протеина значајно утичу на производне особине и њихову варијабилност код крава и као такви се могу користити у генеомској селекцији и оплемењивању приликом побољшања и унапређења производних особина млечних говеда.

Оригинално ове докторске дисертације се огледа у томе што је по први пут, на великом броју грла, у нашој земљи, у условима интензивне производње, испитиван утицај полиморфизма протеина млека (κ – казеина, β -лактоглобулина и трансферина) и повезаност са производним особинама млечних крава.

Собзиром да је млечно говедарство највише заступљено у нашој земљи, добијени резултати о полиморфизму гена могу бити коришћени у даљој селекцији и укрштању приликом побољшање производних особина млечних говеда. Сам успех ове производње зависи од количине произведеног млека, а фаворизовањем пожељних генотипова крава, у сагласности према потребама узгајивача и прерађивачке млечне индустрије, дошло би се до повећања производних особина крава и прецизније селекције.

Научни допринос - Применом геномске селекције, у Србији би се могле добити генетски вредније животиње, чиме би се осигурала конкурентност на домаћем тржишту, и створила могућност извоза квалитетног приплодног материјала на захтевна европска и светска тржишта. Надаље, слична истраживања би могла бити изведена на молекуларном нивоу осталих раса говеда на нашем простору, укључујући и мале преживаре, с обзиром да су истраживања овакав тип јако мало рађена.

Сви добијени резултати пружају солидан допринос страном, али и значајан допринос домаћој научној јавности о разумевању повезаности полиморфизма протеина млека са производним особинама млечних крава у генеомској селекцији. На тај начин, ови резултати ће омогућити нови научни приступ у дефинисању одгајивачких програма и ефикасније селекције у циљу повећања стопе генетског прогреса код млечних говеда.

Осим тога, оригинални научни допринос ове дисертације потврђује и чињеница да је из добијених резултата објављено 5 радова у иностраним научним часописима са SCI – листе.

6. Закључак

Докторска дисертација је написана у складу са образложењем наведеним у одобреној пријави теме и садржи све битне елементе једне докторске дисертације.

Добијени су реални и логични резултати, који су јасно и илустративно приказани табеларно у овој докторској дисертацији. Резултати су тумачени рационално и

логички, при чему су зналачки и коректно дискутовани и упоређивани са резултатима других аутора. Резултати добијени у овом раду, показују да су постигнути постављени циљеви, као и да су потврђене претпоставке истраживања. Ово је омогућило кандидату да изведе логичне, јасне, недвосмислене и убедљиве закључке, у вези са утицајем полиморфизма протеина млека и њиховом повезаношћу са производним особинама млечних крава у геномској селекцији.

Докторска дисертација је оригиналан допринос науци у области Генетике и Оплемењивања животиња с обзиром на то да је по први пут у нашој земљи рађен полиморфизам протеина млека (к-казеина, β -лактоглобулина и трансферина) и њихова повезаност са производним особинама домаћих популација млечних крава.

На основу укупне оцене дисертације, комисија доноси позитивну оцену и предлаже Наставно-научном већу Факултета за Биофарминг у Бачкој Тополи и Сенату Мегатренд Универзитета у Београду да се докторска дисертација под називом „УТИЦАЈ ПОЛИМОРФИЗМА ПРОТЕИНА МЛЕКА И ЊИХОВА ПОВЕЗАНОСТ СА ПРОИЗВОДНИМ ОСОБИНАМА МЛЕЧНИХ КРАВА У ГЕНОМСКОЈ СЕЛЕКЦИЈИ” кандидата М.Сс Драгомира Лукача прихвати, а кандидату одобри јавна одбрана.

Место и датум:
Бачка Топола, 24.12.2015.

Чланови Комисије за оцену докторске
дисертације

Др Бранислав Мишчевић, редовни професор,
Факултет за Биофарминг, Мегатренд
Универзитет у Београду, ментор

Др Тибор Кењвеш, ванредни професор,
Факултет за Биофарминг, Мегатренд
Универзитет у Београду, члан

Др Драгана Љубојевић, научни сарадник,
Научни институт за Ветеринарство „Нови
Сад“, Нови Сад, члан