

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

Датум: 21. 5. 2025. године

Предмет: Извештај Комисије за оцену урађене докторске дисертације Анике Ковинчић, мастер инжењера пољопривреде

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду број 32/7-5.1., од 23. 4. 2025. године, именовани смо у Комисију за оцену урађене докторске дисертације под насловом: „**Агро-морфолошка карактеризација и процена генетичке униформности инбред линија кукуруза**“, кандидаткиње **Анике Ковинчић**, мастер инжењера пољопривреде.

Комисија у саставу: др Славен Продановић, редовни професор, Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду, др Ирена Радиновић, доцент, Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду, др Наталија Кравић, научни саветник, Институт за кукуруз „Земун Поље“, на основу прегледа и анализе докторске дисертације, подноси Наставно-научном већу Пољопривредног факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОСНОВНИ ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ И ДИСЕРТАЦИЈИ

Основни подаци о кандидату: Аника Ковинчић је рођена 02. 01. 1976. у Сјеници. Основну школу је завршила у Лајковцу, а гимназију у Лазаревцу. Дипломирала је на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду 2007., на одсеку Ратарство и повртарство и тиме стекла звање дипломирани инжењер пољопривреде. Мастер академске студије уписала је школске 2012/13. године на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, модул Ратарство и повртарство, а завршила 2015. године, са просечном оценом 10, и оценом 10 из мастер рада „Динамика отпуштања воде и накупљања фосфора током наливања зрна кукуруза“. Године 2008. засновала је радни однос у Институту за кукуруз „Земун Поље“, у групи за селекцију соје. Од 2010. године ради у одељењу за основно семе, као млађи референт, а од 2016. године као самостални референт. Године 2023. прелази у одељење за трансфер технологија. Звање истраживач приправник стиче 2015. године, звање истраживач сарадник 2016. године и звање виши стручни сарадник 2023. године. Докторске академске студије на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, студијски програм Пољопривредне науке, модул Ратарство и повртарство, уписала је школске 2015/2016. године. Као аутор и коаутор је до сада објавила 29 научних радова у домаћим и међународним часописима и коаутор је два призната хибрида кукуруза на националном нивоу. Учествовала је као члан секретаријата у организацији 7. Симпозијума из селекције и семенарства Републике Србије (Вршац, 2012. године). Члан је Друштва генетичара Србије и Друштва селекционара и семенара Србије. Говори, чита и пише енглески језик и служи се руским језиком.

Основни подаци о дисертацији: Докторска дисертација мастер инжењера пољопривреде Анике Ковинчић под називом: „Агро-морфолошка карактеризација и процена генетичке униформности инбред линија кукуруза“ написана је у складу са захтевима који су прописани на основу „Упутства о облику и садржају докторске дисертације која се брани на Универзитету у Београду“. Дисертација је написана на укупно 107 страница у оквиру којих се налази 18 табела, 12 слика и 28 графика и садржи: насловну страницу на српском и енглеском језику, страницу са информацијама о менторима и члановима комисије, страницу са резимеом на српском и енглеском језику, две странице са садржајем, као и следећа поглавља: Увод (стр. 1–2); Циљ истраживања (стр. 3); Преглед литературе (стр. 4–15); Основне хипотезе од којих се полази (стр. 16); Материјал и методе (стр. 17–26); Резултати и дискусија (стр. 27–76); Закључак (стр. 77–79); Литература (стр. 80–102); Биографија аутора (стр. 103); Изјаве о ауторству, о истоветности штампане и електронске верзије и о коришћењу (стр. 104–107).

2. ПРЕДМЕТ И ЦИЉ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Предмет истраживања докторске дисертације је евалуација агро-морфолошких особина инбред линија кукуруза у специфичним условима окружења, ради добијања информација значајних за њихово ефикасније умножавање у семенској производњи. Инбред линије, за разлику од хибрида, су подложније интеракцијском утицају генотип (Г) x спољашња средина (Е), те је познавање њихових перформанси за планирано подручје гајења изузетно важно. Рок и густина сетве су агротехничке мере које могу утицати на висину приноса кукуруза. Рок сетве је условљен биолошким особинама, нарочито дужином вегетационог периода генотипа, агроеколошким условима у одређеном региону и наменом (зрно или силажа). Густина сетве зависи од генотипа, плодности земљишта и климе, највише од очекиване количине и распореда падавина током вегетационог периода кукуруза. Процена утицаја различитог рока и густине сетве на морфолошка својства и принос инбред линија кукуруза у вишегодишњим огледима је битна стратегија у семенској производњи. Стога је један од циљева дисертације давање препоруке за примену одговарајућих агро-техничких мера и одабир инбред линија кукуруза одговарајуће групе зрења за семенску производњу, на основу њихових карактеристика и оствареног приноса, кроз тестирање у различитим агро-еколошким условима производње. Процена генетичке униформности родитељских компонената (инбред линија) и њихових хибрида битан је критеријум контроле квалитета у оплемењивању кукуруза, у признавању нових сорти и у семенској производњи. За процену генетичке униформности се најчешће користе морфолошки, биохемијски и молекуларни маркери. Дескриптор за кукуруз који је објавила Међународна заједница за заштиту нових биљних сорти (*International Union for the Protection of New Varieties of Plants, UPOV*) је једна од смерница за карактеризацију генотипова у циљу стандардизације морфолошког описа кукуруза. Дескриптор за кукуруз је претежно усмерен на квалитативне особине. Већина морфолошких и других особина од значаја за продуктивност кукуруза је квантитативне природе. Испољавање ових особина је у знатној мери условљено дејством фактора спољашње средине, а уједно и развојном фазом биљке, те се квантитативне особине одликују варијабилношћу. У поређењу са морфолошким полиморфизмом, молекуларни и биохемијски полиморфизам се сматра прецизнијим и више информативним. Стога, у циљу процене генетичке униформности генотипова, примењена је стандардна референтна метода Ултра танкослојно изоелектрично фокусирање (*Ultra Thin Layer Isoelectric Focusing, UTLIEF*) и сет од осам *Simple Sequence Repeats (SSR)* маркера

препоручених од стране Међународне организације за испитивање семена (*ISTA*) за верификацију генотипова кукуруза. Програмом истраживања обухваћено је укупно 15 инбред линија кукуруза, од којих су 11 компоненте признатих хибрида, а преосталих четири су се показале као перспективне након тестирања општих и посебних комбинационих способности.

3. ОСНОВНЕ ХИПОТЕЗЕ ОД КОЈИХ СЕ ПОЛАЗИЛО У ИСТРАЖИВАЊУ

Основне хипотезе у оквиру ове докторске дисертације су следеће:

- Полазна основа истраживања је да спољна средина, укључујући својства земљишта и временске услове, могу значајно утицати на умножавање инбред линија у семенској производњи, односно на њихове агро-морфолошке карактеристике.

- Агро-техничке мере (подешавање времена сетве, примена адекватне густине усева) и одабир генотипова прилагођених ареалу гајења, могу допринети смањењу негативаног дејства абиотичког и биотичког стреса на биљку.

- Између одабраних инбред линија кукуруза различите генетичке основе и групе зрења, очекује се да постоји значајна разлика у карактеристикама *per se*, као и значајна варијабилност у приносу и другим агрономским особинама услед различитих агро-еколошких услова гајења.

- Агро-морфолошка карактеризација омогућава да се добију и статистички анализирају подаци о вредностима особина генотипова у пољским условима, а што је незамењив поступак у класичном оплемењивању биљака који даје сменице за одабир најбољих инбред линија.

- Применом биохемијских и молекуларних маркера, може се проверити генетичка хомозиготност и униформност инбред линија. Очекује се висок проценат хомозиготности линија компонената признатих хибрида.

- Информативност *SSR* маркера препоручених од стране *ISTA* представља добру основу за процену генетичког диверзитета испитиваних инбред линија.

- Свестрана анализа, којом је обухваћена морфолошка дескрипција, реаговање генотипова на спољне услове и примењену агротехнику, као и молекуларно маркирање може дати комплетну слику о вредности инбред линија у семенској производњи, на основу које се могу донети закључци о унапређењу семенске производње инбред линија кукуруза.

4. КРАТАК ОПИС САДРЖАЈА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Увод

У оквиру уводног поглавља кандидаткиња се осврнула на значај кукуруза као биљне врсте са производног и агроеколошког аспекта. Посебно је нагласила да се савремена производња кукуруза заснива на употреби хибрида кукуруза, који настају укрштањем инбред линија. За унапређење семенске производње потребно је инбред линије гајити применом одговарајуће агротехнике у условима који омогућавају испољавање најбољих особина и обезбеђују високе приносе генотипова. Осим тога, важно је да се инбред линије одликују високим степеном хомозиготности, како би хибриди имали униформне особине, а што олакшава примену свих неопходних техника и мера у производњи хибридног семена. Кандидаткиња је указала да селекционарима стоје на располагању различите методе за процену униформности. Класични приступ се заснива на фенотипској карактеризацији и омогућује оцену агрономске вредности и униформности новостворених инбред линија кукуруза, узевши у обзир варијабилност особина као последицу утицаја срединских фактора. Примена протеинских тј.

биохемијских и ДНК-заснованих молекуларних маркера у идентификацији генотипова и процени генетичке униформности је савременији приступ, чије предности су описане на крају уводног поглавља.

Преглед литературе

Ово поглавље подељено је у седам потпоглавља: *Порекло и историјат гајења кукуруза, Привредни значај кукуруза, Стварање инбред линија и хибрида кукуруза, Униформност, стабилност и интеракција, Фактори који утичу на принос кукуруза* (утицај рока и густине сетве на принос), *Квалитет семена и контрола генетичке чистоте, Генетички маркери* (морфолошки, биохемијски и молекуларни). На почетку је дат кратак осврт на порекло и историјат гајења кукуруза, време и пут којим је кукуруз доспео у Европу и на наше просторе. Поред истицања привредног значаја кукуруза, кандидаткиња је кроз релевантне референце указала на највеће светске произвођаче кукуруза и на површине које кукуруз заузима у свету и Републици Србији. У овом поглављу наведени су литерални извори који објашњавају појмове инбред линија и хибрид, процес њиховог стварања, и који истичу значај открића хетерозиса и прелазак са сортне на хибридну производњу кукуруза. Такође је објашњено значење униформности, стабилности и значаја утицаја генотипа, фактора спољашње средине и њихове интеракције на фенотипске карактеристике кукуруза. У наставку овог поглавља докторандкиња наводи резултате истраживања аутора који су испитивали утицај различитих фактора (генотипа, примењене агротехнике, биотичких и абиотичких) и њихових интеракција на висину оствареног приноса, истичући важност тестирања генотипова у мултилокацијским и/или вишегодишњим огледима. Кандидактиња је навела резултате научних радова у вези квалитета семена, приказујући различите методе које се примењују за процену квалитета. Као један од најважнијих критеријума квалитета истакла је процену генетичке униформности инбред линија. На крају овог поглавља налази се преглед истраживања са различитим типовима генетичких маркера, и наведени су резултати добијени најчешће коришћеним маркерима за процену нивоа хомозиготности инбред линија, како експерименталних тако и линија које су компоненте комерцијалних хибрида.

Материјал и методе

Ово поглавље садржи седам потпоглавља: *Биљни материјал, Агрометеоролошки услови* (2016., 2017. и 2018. године), *Дизајн пољских огледа, Агро-морфолошка карактеризација и процена униформности по UPOV дескриптору, Процена генетичке униформности протеинским маркерима, Процена генетичке униформности SSR маркерима, Статистичка анализа фенотипских података*.

У првом потпоглављу кандидаткиња наводи да је биљни материјал сачињавало 15 инбред линија кукуруза (Г1–Г15) од којих су 11 компоненте признатих хибрида, а преосталих четири, селекциони материјал у процесу тестирања. Генотипови су стандардног квалитета зрна, различите генетичке основе, од средње раних до касних група зрења (300–700 *FAO* групе зрења) Института за кукуруз „Земун Поље“. Истакла је да је за сваки генотип, исти узорак семена коришћен за тестирање у условима поља и за лабораторијску анализу.

У другом потпоглављу је дат детаљан приказ агро-метеоролошких услова током година истраживања (2016-2018). Истакнуто је да је друга година истраживања била најмање повољна за гајење кукуруза.

У наредном потпоглављу кандидаткиња је описала поставку трогодишњих огледа изведених на локацији Земун Поље. Сетва генотипова је обављена ручно у четири реда, на међуредном растојању 0,75 m, у две густине (30 cm и 40 cm), у два рока

сетве (десетодневни интервал између рокова), и у два понављања, по комплетно рандомизираним блок дизајну (*RCBD*).

У четвртом потпоглављу, описана је агро-морфолошка карактеризација и процена униформности инбред линија кукуруза. Праћене су квалитативне, псеудо-квалитативне и квантитативне особине по *UPOV* дескриптору, како би се обезбедио стандардизовани опис генотипова. Генотипови су карактерисани праћењем 32 особине, метрички или визуелно оцењених. Осим особина из *UPOV* дескриптора, мерено је још 10 агро-морфолошких особина, израчунат је принос по биљци и утврђен интервал између метличења и свилања (*ASI - Anthesis Silking Interval*). Процена фенотипске униформности на основу визуелних оцена применом *Off-type* приступа рађена је на узорку од 160 биљака по генотипу у свакој години истраживања. Објашњен је принцип визуелног оцењивања и процене униформности на основу величине одабраног узорка.

У петом потпоглављу, описана је примена биохемијских маркера *UTLIEF* за анализу резервних протеина растворљивих у води (албумини) и растворљивих у алкохолу (проламини) према важећим *ISTA* правилима. Процена генетичке униформности испитиваних инбред линија кукуруза рађена је на узорку од 100 појединачних семена. У овом потпоглављу објашњен је метод припреме узорка за анализу, протокол раздвајања резервних протеина, као и начин тумачења резултата у процени униформности анализираних инбред линија кукуруза.

У шестом потпоглављу наведено је осам полиморфних *SSR* маркера препоручених од стране *ISTA* за верификацију генотипова кукуруза, а који су у овој докторској дисертацији коришћени за процену генетичке униформности одабраних генотипова. Објашњен је начин припреме узорака, изолације и амплификације *DNK* и ток полиакриламидне електрофорезе. Објашњен је принцип процене генетичке униформности, засноване на анализи групног узорка (*bulk*) од 20 зрна за сваки генотип. У случају уочене хетерозиготности код групних узорака појединих линија, примењена је метода изолације ДНК из 20 појединачних биљака (семена) и поновљена је *PCR* амплификација за прајмере који су показали неспецифичну хетерозиготност (неуниформност).

У последњем потпоглављу кандидаткиња је навела статистичке методе коришћене за обраду података о фенотипским вредностима. Резултати испитиваних агро-морфолошких особина обрађени су применом четворо-факторијалне анализе варијансе (*ANOVA*), по *RCB* дизајну у два понављања. Варијабилност анализираних особина процењена је на основу вредности средњих апсолутних одступања од просека (стандардна девијација – *SD*) и релативне мере варијације (кофицијент варијације – *CV*). За сваку особину утврђена је и најмања значајна разлика коришћењем *Fisher*-овог (*Least Significant Difference Test, LSD*) теста. Израчунате су фенотипске корелације између посматраних агро-морфолошких особина применом *Pearson*-овог коефицијента корелације. Груписање генотипова на основу анализираних особина урађено је помоћу факторске анализе главних компонената (*Principal Component Analysis, PCA*). Статистичка анализа рађена је у *SPSS 22.0* софтверском пакету. Процена стабилности генотипова у погледу приноса, урађена је анализом варијансе (*Additive Main-effects and Multiplicative Interaction Models, AMMI*) модела. *AMMI* анализа је рађена у програму *GenStat 12th Edition*.

Резултати и дискусија

Ово поглавље је највеће и састоји се од два потпоглавља у којима је кандидаткиња на јасан и прецизан начин приказала резултате истраживања које је спроведено у оквиру докторске дисертације. Дискусија резултата је темељна и концизна, адекватно упоређена са резултатима сличних истраживања која су доступна

у литератури. Употребом бројних слика, графика и табела омогућен је детаљан увид у добијене резултате.

Првим потпоглављем – *Агро-морфолошка карактеризација* обухваћено је девет поднаслова (Анализа варијансе за морфолошке особине, Тренд промена морфолошких особина, Анализа варијансе компонената приноса и приноса, Тренд промена компонената приноса и приноса, Утицај рока и густине сетве на висину приноса по години истраживања, Утицај периода између метличења и свилања на принос зрна по биљци инбред линија кукуруза, Анализа главних компонената (*PCA-Principal Component Analysis*), *AMMI* модел процене стабилности приноса и Фенотипске корелације). Кандидаткиња је у оквиру овог потпоглавља кроз поднасловe следљиво приказала и образложила резултате.

Четворофакторијална *ANOVA* је показала да су извори варирања (генотип, година, густина, рок и њихове интеракције) били статистички значајни за највећи број анализираних агро-морфолошких особина.

Генотипови су детаљно окарактерисани на основу трогодишњег просека 21 агро-морфолошке особине. Особине које су анализирани су: висина биљке до врха метлице, висина биљке до најниже и највише бочне гране метлице, висина клипа, број листова од клипа до врха биљке, дужина и ширина клипног листа, дужина осе метлице од највише и најниже бочне гране метлице, број и дужина примарних грана метлице, дужина клипа, пречник клипа, пречник кочанке, број редова зрна, број зрна у реду, маса 100 зрна, дужина, ширина и дебљина зрна и принос (g/биљка). С обзиром да је већина инбред линија највиши принос остварила у трећој години истраживања, разлике у просечним вредностима морфолошких особина, компонената приноса и приноса у прве две године у односу на трећу годину истраживања утврђене су процентом промене. Резултати су указали на мање разлике у просечним вредностима морфолошких особина прве и треће и веће разлике између друге и треће године. Ауторка је у току истраживања посебан акценат ставила на принос као најзначајнију агрономску особину. Истакла је да је принос зрна комплексна особина, одраз интеракције животне средине и примењене агротехнике са процесима раста и развоја биљака. Објаснила је утицај компонената приноса на висину оствареног приноса. Нагласила је да су компоненте приноса склоне променама услед прилагођавања различитим агро-еколошким условима, што су резултати овог истраживања и потврдили.

Анализирајући утицај густине и рока сетве на висину приноса, резултати показују да је већина инбред линија највиши принос остварила у условима ређе сетве у првом року (прве и треће) и у другом року (друге) године истраживања. Овим потпоглављем обухваћена је и анализа утицаја интервала између метличења и свилања на висину оствареног приноса. Кандидаткиња је истакла да је поред приноса *ASI* веома значајна особина и кључни показатељ одговора биљке на стресне услове спољашње средине (топлотни стрес и суша) у току периода цветања. Резултати показују да је код већине генотипова најповољнији *ASI* био треће, а најмање повољан друге године истраживања што се одразило и на висину оствареног приноса. Наиме, 12 инбред линија највећи принос је остварило треће године, док је већина генотипова најмањи принос имала друге године током које су владали најмање повољни метеоролошки услови.

Анализа главних компонената (*PCA*) је примењена у циљу потпунијег увида у одговор биљке на различите услове спољашње средине и сагледавања међусобног односа великог броја испитиваних особина. Подаци добијени *PC* анализом сматрају се релевантним када је обухваћена варијабилност већа од 70% укупне варијабилности система. Такође је неопходно да *Eigenvalues* за *PC* осе буду веће од 1 (вредности > 1), што је у овом експерименту и потврђено. За фактор Година, проценат варијабилности

обухваћен *PC* осама износио је 70,98 % укупне варијабилности система, при чему је *PC* 1 оса обухватила 28,11%, *PC* 2 21,94%, *PC* 3 11,75% и *PC* 4 9,18% укупне варијабилности. За фактор Генотип, проценат варијабилности обухваћен *PC* осама износио је 72,78% укупне варијабилности система, при чему је *PC* 1 оса обухватила 32,2%, *PC* 2 19,58%, *PC* 3 11,38% и *PC* 4 9,63% укупне варијабилности. Анализом је издвојено укупно 15 особина (висине биљке, висина клипа, дужина и ширина клипног листа, дужа и краћа оса метлице, дужина грана метлице, пречник кочанке, број редова зрна, број зрна у реду, маса 100 зрна, ширина зрна и принос) које су у случају фактора Генотип и Година допринеле укупној варијабилности. Прве две *PC* осе у случају оба фактора (Година и Генотип) су биле најдискриминативније с обзиром да су обухватиле више од 50% укупне варијабилности система, резултирајући најјаснијим раздвајањем генотипова. *PC* анализа је утврдила значајан утицај фактора Година на посматране особине, указујући на неповољне агро-еколошке услове током друге године испитивања који су резултирали ниским вредностима за већину наведених морфолошких особина. Анализа је такође утврдила значајан утицај фактора Генотип на посматране особине. Најјаснија сепарација је уочена за линију генотипа Г5 коју карактеришу највише вредности за принос и компоненте приноса (број редова зрна и пречник кочанке) и најниже вредности за морфологију метлице. Према свим наведеним особинама, изузев приноса, опозитна јој је линија генотипа Г1. Линију генотипа Г11 карактеришу највише вредности висине биљке, висина клипа, ширина листа и ширина зрна, а линију генотипа Г13 најмање вредности за број зрна у реду, ширина зрна, маса 100 зрна и принос. Највећу дужину листа имао је генотип Г15 (*FAO* 600), а најмању линија Г3 (*FAO* 300). Осредњост по вредности већине посматраних особина показао је генотип Г7.

Способност генотипа да у различитим срединама оствари уједначен и висок принос је веома важна. Из тог разлога се генотипови тестирају у вишегодишњим и/или вишелокацијским огледима. Мања осетљивост на променљиве услове спољашње средине (мањи допринос интеракцији) доводи до веће стабилности генотипова у погледу приноса или неких других особина. Примењен је *АММИ* модел за анализу интеракције генотип $\times$ спољашња средина ($G \times E$) и процену стабилности 15 инбред линија кукуруза за принос. Ова метода у првом кораку подразумева анализу варијансе, а потом анализу главних компонената на неадитивном остатку ($G \times E$) интеракцији. Анализа варијансе *АММИ* модела је указала да су у првом року сетве сви извори варирања (третман, генотип и година) имали статистички значајан ($p < 0.01$) утицај на експресију приноса зрна, као и на постојање статистички значајне интеракције, што је у складу са резултатима *ANOVA*. Разлике између година су биле најважнији фактор који је утицао на принос семена са 37,78% објашњене суме квадрата. Разлике међу генотиповима објашњавају 30,81% тоталне варијације, а интеракције 23,38%. У другом року сетве који је уследио десет дана наком првог, *АММИ* анализом установљен је статистички значајан утицај ($p < 0.01$) извора варирања (третман, генотип и година) на експресију приноса зрна, као и на постојање статистички значајне интеракције. Међутим, за разлику од првог рока сетве где су година и генотип имали приближан утицај на варијације у приносу, у другом року утицај генотипа је био доста израженији. Наиме, удео генотипа (49,63%) у укупној суми квадрата био је за 5,7 пута већи од удела године (8,73%) и за 1,7 пута већи од удела интеракције (29,19%). Удео прве главне компоненте (*IPCA*1) у суми квадрата интеракције износи 59,09%, а компоненте *IPCA*2, 40,91%. На основу резултата *АММИ* анализе у првом року по стабилности и висини приноса изнад општег просека у обе густине сетве издвојили су се генотипови Г5 и Г6 групе зрења *FAO* 400, праћени линијом Г8 (*FAO* 500). У другом року по истом критеријуму издвојила се линија Г12 (*FAO* 600). Наведени генотипови се могу сматрати

погодним за гајење у ширем агро-еколошком ареалу. Први рок и мања густина сетве позитивно су утицали на висину и стабилност приноса линија Г4, Г1 и Г2 групе зрења *FAO* 300–400. У другом року изнадпросечан принос и слаб ефекат интеракције имале су линије Г5 и Г6 при већој густини склопа и линија Г7 при мањој густини склопа. За њих се процењује да поседују ужу адаптивност.

Фенотипске корелације између свих посматраних агро-морфолошких особина по години истраживања утврђене су помоћу *Pearson*-овог коефицијента корелације. Кандидаткиња је резултате представила табелама корелационих матрица. Анализиране су корелације између: морфолошких особина, компонената приноса, морфолошких особина и компонената приноса и између приноса и свих посматраних особина. Утврђено је да је фактор година утицао на корелисаност и статистичку значајност фенотипских особина.

Друго потпоглавље – *Процена униформности инбред линија кукуруза*, чине три поднаслова (Процена фенотипске униформности по *UPOV* дескриптору, Процена генетичке униформности протеинским маркерима и Процена генетичке униформности *SSR* маркерима).

У оквиру другог потпоглавља кандидаткиња је истакла важност процене фенотипске и генетичке униформности. Хомозиготним или фиксирани линијама се сматрају линије у којима удео хетерозиготних *SSR* локуса не прелази 5%. Насупрот томе, инбред линије са више од 5% хетерогених *SSR* локуса сматрају се или нефиксираним (тј. рана генерација инбридинга) или су вероватно биле контаминирани поленом или семеном другог извора током умножавања семена, одржавања и складиштења. У Лабораторији за испитивање квалитета семена Института за кукуруз, све родитељске компоненте се испитују, у процесима признавања и умножавања. На тај начин се постиже њихова хомозиготност, генетичка чистоћа и припадност сертификованом генотипу. Само такве родитељске компоненте се могу даље користити у производњи хибридног семена кукуруза. Позивајући се на губитке који могу настати у семенској производњи услед одступања од генетичке униформности инбред линија кукуруза, кандидаткиња истиче значај правовремене процене. Да би се одржао генетички идентитет хибрида и максимални капацитет родности, неопходно је одржавање високог нивоа хомозиготности током умножавања инбред линија укључених у хибрид. За процену генетичке униформности, најчешће се користе генетички маркери сврстани у групе: морфолошки, биохемијски и молекуларни. У *UPOV* дескриптору се у случају инбред линија и *single-cross* хибрида кукуруза истиче значајност визуелних оцена у процени униформности. Кандидаткиња је навела је да је у оквиру истраживања примењен метод визуелне процене униформности у свакој години истраживања. Од укупно 22 визуелно оцењене особине, три су псеудоквалитативне (облик врха првих листова, боја зрна у основи и боја зрна на врху), једна квалитативна (тип зрна) док су остале особине квантитативне. Број биљака ван типа, тј. број *Off-type* који се може толерисати у зависности од величине узорка често се заснива на фиксном „популационом стандарду“ („*population standard*“) и „вероватноћи прихватања“, („*acceptance probability*“). За процену униформности инбред линија примењен је популациони стандард од 3%, са вероватноћом прихватања од најмање 95%. Наиме, за узорак од 160 биљака (као што је био случај у овом експерименту), дозвољено је девет *Off-type* биљака. Без обзира на број морфолошких особина за које биљка има очигледно другачије испољавање од оригиналног сортног типа, она ће се рачунати само као једна *Off-type* биљка. Истакнуто је да у оквиру визуелне процене *Off*-типова, посебну пажњу треба обратити на особине које су испољиле више од два нивоа од могућих пет нивоа експресије особине (нпр. антоцијанска обојеност свиле, боја антоцијана корена и тип зрна). Кандидаткиња је објаснила да није свака визуелна оцена подједнако релевантна

за процену униформности, наводећи које су особине посебно значајне. Добијени резултати указују да од 15 инбред линија, две линије (Г1 и Г2) одступају од фенотипске униформности. Биљке инбред линије Г1 испољиле су варијабилност у четири особине: антоцијанска обојеност антера (АА), антоцијанска обојеност свиле (АС), антоцијанска обојеност ваздушних коренова (АК) и тип зрна (ТЗ). На основу ових особина уочено је одступање од униформности код 16 биљака прве године, 11 биљака друге и 12 биљака треће године, чиме је утврђено одступање од униформности од 10, 6,9 и 7,5% респективно. Биљке инбред линије Г2 су испољиле варијабилност у пет особина: АА, АС, ТЗ, боја зрна у основи (БС) и антоцијанска обојеност кочанке (А). Број биљака које су испољиле варијабилност у овим особинама био је: 22 прве, 24 друге и 20 треће године, што је значило одступање од униформности за 13,8%, 15,0% и 12,5% респективно.

Узимајући у обзир чињеницу да је процена униформности морфолошким маркерима захтеван процес који траје читав вегетациони период, и да се оцењивање често приписује субјективности оцењивача, процена је рађена и у лабораторији (протеинским и SSR маркерима). Процена је рађена како због њиховог потенцијалног даљег умножавања и примене у селекцији хибрида, тако и због поређења ефективности фенотипских, биохемијских и молекуларних маркера у оцени униформности/хомозиготности генотипова кукуруза. Кандидаткиња је резултате приказала у шест слика. Анализом електрофореграма албумина, добијених применом *UTLIEF* методе, за испитиване инбред линије Г3–Г15 потврђена је њихова генетичка униформност/хомозиготност. Број јасно изражених протеинских трака идентификованих код наведених инбред линија је износио најмање 14 (Г14 и Г15) до 29 код Г10. Фокусирање различитих молекула протеина у изоелектричним тачкама на различитим рН вредностима указује на генетички диверзитет испитиваних линија. Анализом електрофореграма инбред линија Г1 и Г2 утврђено је да нису у потпуности хомозиготне. Албумини семена линије Г1, раздвојили су се на јасно видљивих 20 трака. Разлике између протеинских профила наведене линије идентификоване су код 10 појединачних од 100 испитиваних семена (90% хомозиготности). Анализом резултата електрофорезе проламина семена инбред линије Г1 идентификовано је укупно 17 протеинских трака по изолату, а 6 од 100 анализираних семена није типично за линију Г1 (хомозиготност 94%). Електрофорезом албумина код Г2 је утврђен виши ниво хомозиготности (94%) у односу на Г1, а електрофорезом проламина утврђен степен хомозиготности од 97%.

На крају овог потпоглавља кандидаткиња износи резултате процене генетичке униформности применом осам SSR маркера. Нагласила је да је ово први пут у нашој земљи да се овај сет маркера примењује у циљу процене генетичке униформности. Резултати су показали да су од осам, два SSR markera (*phi* 102228 и *umc* 1545) детектовала потенцијалну хетерозиготност код две испитиване линије (Г1 и Г2) потврђујући резултате протеинских и морфолошких маркера. Додатном анализом на 20 појединачних биљака (семена) за линију Г1 прајмером *umc* 1545 такође су детектована два различита алела у појединачним узорцима, што указује да ова линија није генетички униформна тј. хомозиготна. Од 20 анализираних биљака уочене су три атипичне биљке, односно 15% хетерозиготности. Код линије Г2 број атипичних биљака са прајмером *phi* 102228 износио је шест, што представља 30% хетерозиготности. За све инбред линије које показују хетерозиготност између 5% и 15% неопходно је урадити додатну самооплодњу клип на ред, док је оне које показују ниво хетерозиготности већи од 15% потребно или одбацити или поново приступити екстензивној селекцији. У оквиру овог поднасловa ауторка износи и да су од укупног броја испитиваних генотипова, код три линије детектовани јединствени алели: код Г3 са локусом *umc*

109275 детектован је алел од приближно 141 bp, код Г14 са локусом *umc* 1448 уочен је алел од приближно 161 bp и код Г11 са локусом *umc* 1545 добијен је алел од приближно 76 bp. Присуство јединствених алела значајно је за идентификацију одређеног генотипа у анализама сродства и порекла испитиваног материјала. Некада су ови алели повезани са јасно дефинисаним одликама неког генотипа, тако да могу имати значај у оплемењивању, као што су алелне варијанте *opaque2* и *crtRB1*.

Закључци

Резултати истраживања довели су до испуњења циљева постављених у докторској дисертацији и омогућили доношење релевантних закључака. Четворофакторијална анализа варијансе је показала да су извори варирања (генотип, година, густина, рок и њихове интеракције) били статистички значајни за највећи број анализираних особина.

Прве године која је по температури, количини и распореду падавина била приближна трећој години истраживања што се одразило и на висину вредности испитиваних особина.

Прве године све линије раније групе зрења имале просечно већу дужину и ширину листа док се број листова од клипа до врха биљке код већине линија није значајније мењао. Неповољни агро-метеоролошки услови у току вегетационог периода друге године (2017.) утицали су на значајније редуковање дужине и броја листова и на повећање ширине листа код већине инбред линија. Већина генотипова прве године није имала значајне промене за дужину оса метлице. Друге године већина генотипова је имала просечно краће осе метлице.

Прве године за већину морфолошких особина мање промене су утврђене код инбред линија *FAO* 600–700 групе зрења (линије Г10–Г15), а веће промене код линија *FAO* 400–500 групе зрења (линије Г5–Г8). Насупрот овоме, друге године истраживања мање промене имале су линије Г5, Г6 и Г8 (*FAO* 400–500), а веће промене линије Г10, Г14 и Г15 (*FAO* 600–700) групе зрења.

Чињеница да тестиране инбред линије припадају различитим групама зрења *FAO* 300–700, да су различитог генетичког порекла и да су гајене у три метеоролошки различите године у два рока и две густине сетве, резултирала је значајним разликама у анализираном приносу и компонентама приноса. Већина инбред линија кукуруза највиши принос остварила је треће године истраживања (2018.).

Резултати истраживања указују да су прве године сви генотипови имали просечно веће вредности за пречник кочанке, 12 линија за број редова зрна, док је већина линија имала просечно мање вредности за принос и све друге компоненте приноса. Друге године просечно мање вредности за принос и број зрна у реду имале су све линије, док је већина линија имала просечно мање вредности за све друге анализираних компоненте приноса.

Прве године минималне разлике за већину компонената приноса имале су линије Г11 и Г9 (*FAO* 600), а максималне линије Г5–Г8 (*FAO* 400–500). Друге године, линије Г1, Г2, Г5 и Г8 (*FAO* 300–500) имале су минималне разлике за већину компонената приноса, а максималне линије Г9, Г11 и Г14 (*FAO* 600–700).

Већина генотипова прве године је имала мањи принос у интервалу од 11,0% до 34,2%, а друге године у интервалу од 30,0% до 58,8% у односу на трећу годину истраживања.

Највиши принос већина инбред линија је остварила у условима ређе сетве у првом сетвеном року (прве и треће) и у другом сетвеном року (друге) године истраживања.

Најповољнији *ASI* био је треће године, а најмање повољан друге године истраживања. У првој години број дана од метличења до свилања се кретао у интервалу од 1,8 (код линије Г1), до 5,3 дана (генотипови Г13 и Г15). Друге године линија Г1 је такође имала најмању вредност за *ASI*, (1 дан), а највећи (5,5 дана) имале су линије Г9 и Г12 респективно. Треће године *ASI* се кретао од -1,5 (код линије Г2), до 3,3 дана (код линије Г4). Најкраћи *ASI* треће године истраживања резултирао је највећим оствареним приносом по биљци код 12 генотипова.

На основу *per se* перформансе посебно су се издвојили генотипови Г5 и Г8 за које је раније потврђено да су добрих комбинационих способности.

За факторе година и генотип, анализом главних компонената (*PCA*) је утврђено да су се особине раст биљке, особине метлице и карактеристике зрна показале најдискриминативнијим у процени варијабилности евалуираних инбред линија кукуруза.

Применом *АММ* модела, анализа варијансе представљена по року сетве (Р1 и Р2), је показала да су сви извори варирања (генотип, третман – густина сетве, година, као и њихова интеракција) значајно утицали на принос зрна ($p < 0,01$). У првом сетвеном року на обе густине, најбољу перформансу у погледу стабилности и висине приноса који је премашивао општи просек, издвојили су се генотипови Г5 и Г6 (*FAO* 400), као и Г8 (*FAO* 500). У другом сетвеном року по истом критеријуму издвојила се линија Г12 (*FAO* 600). Наведени генотипови се могу сматрати погодним за гајење у ширем агро-еколошком ареалу.

Утврђено је да је фактор година утицао на корелисаност и статистичку значајност фенотипских особина.

Генетичким маркерима утврђено је одступање од униформности инбред линија Г1 и Г2.

На основу фенотипске процене униформности визуелним оцењивањем применом *Off-type* приступа особине које су се показале ефикасним за процену униформности биле су: (антоцијанска обојеност - антера, свиле, ваздушних коренова и кочанке), затим тип зрна и боја зрна у основи.

Потврђена је ефикасност *SSR* маркера и генерално конзистентност са резултатима морфолошких и протеинских маркера. Само два маркера *phi* 102228 и *umc* 1545 од укупно осам, која су показала хетерозиготни профил код две инбред линије, потврдили су уједно да је само један ко-доминантни маркер довољан за процену генетичке хомозиготности линија. Показано је и да прајмери преписани од стране *ISTA* за верификацију генотипова могу да се користе за рутинско проверавање генетичке униформности инбред линија кукуруза. Нарочито су значајни маркери који су тестирањем појединачних семена идентификовали линије са присуством атипичних алела. Информације о *SSR* маркерима добијене у овој дисертацији биће од помоћи у стварању комерцијалног семена хибрида кукуруза и процени генетичке униформности.

Литература. У дисертацији је наведено 377 литературна извора. Литература је наведена на правилан начин и у потпуности одговара тематици истраживања.

5. ОСТВАРЕНИ РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ДИСЕРТАЦИЈЕ

Истраживање на кукурузу које је спроведено у оквиру ове докторске дисертације представља значајан подухват у области агрономије којом је омогућена детаљна карактеризација инбред линија кукуруза применом конвенционалних и савремених метода.

Детаљном евалуацијом инбред линија кукуруза у вишегодишњем тестирању добијене су корисне информације за њихово даље умножавање у семенској

производњи. Без обзира на предузимање јасно дефинисаних мера, потенцијални пропусти се могу десити током стварања и умножавања хибрида и родитељских инбридних линија кукуруза. Да би се то избегло, примена претконтролног теста за процену генетичке униформности инбрид линија и потврде оригиналности хибрида кукуруза је веома важна компонента програма умножавања и сертификације семена. Применом овог теста могу се избећи већи финансијски проблеми за све учеснике у ланцу производње семена. По први пут у Републици Србији примењен је сет од осам *SSR* маркера преписан од стране *ISTA* за верификацију генотипова кукуруза у циљу процене генетичке униформности инбрид линија. Добијени резултати истраживања потврдили су информативност два маркера у процени нивоа хомозиготности анализираних генотипова што представља значајан допринос како селекцији тако и семенарству. У овој студији, откривено одступање од генетичке униформности код две од 15 инбрид линија кукуруза помоћу *SSR* маркера, указује на важност њихове употребе у претконтролном тестирању квалитета семена одмах након жетве, а пре сертификације, паковања и продаје семена хибрида кукуруза и родитељских линија. Само два маркера *phi* 102228 и *umc* 1545, која су показала хетерозиготни профил код две инбрид линије, потврдили су уједно да је само један кодоминантан маркер довољан за процену генетичке хомозиготности инбрид линија.

6. ОБЈАВЉЕНИ И САОПШТЕНИ РЕЗУЛТАТИ

1. **Kovinčić Anika**, Marković Ksenija, Ristić Danijela, Babić Vojka, Petrović Tanja, Živanović Tomislav, Kravić Natalija. (2023): Efficiency of Biological Typing Methods in Maize Hybrid Genetic Purity Estimation. *Genes*, 14(6): 1195. doi: [10.3390/genes14061195](https://doi.org/10.3390/genes14061195)

7. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Комисија сматра да докторска дисертација Анике Ковинчић, мастер инжењера пољопривреде под насловом „**Агро-морфолошка карактеризација и процена генетичке униформности инбрид линија кукуруза**“ представља самостално и оригинално дело аутора. Докторска дисертација је урађена у потпуности у складу са циљем и програмом који су дефинисани у оквиру одобрене Пријаве теме. Кандидаткиња је у уводу и прегледу литературе на јасан и детаљан начин проучила резултате истраживања других ауторасходно тематици докторске дисертације. Истакла је значај фенотипске карактеризације и процене фенотипске и генетичке униформности инбрид линија. Методе које су коришћене су у потпуности одговарајуће за спроведену студију. Добијени резултати потврђују постављене хипотезе и циљ истраживања. Они су приказани на детаљан и адекватан начин, а у оквиру дискусије је дат осврт на резултате других истраживања. На основу добијених резултата успешно су изведени одговарајући закључци. Будући да на нашим просторима тема ове докторске дисертације до сада није била предмет истраживања, комисија сматра да резултати ове студије поред практичног имају велики значај као основа за даљи рад у области селекције и семенарства. Као значајни резултати овог истраживања издвојене су визуелне особине на основу којих се прилично поуздано може проценити фенотипска униформност. Такође су издвојене особине које у највећој мери дефинишу укупну варијабилност анализираних генотипова. Установљено је да веће растојање између биљака резултује већим приносом, поготову у првом року сетве, код већине генотипова. Успешно су по висини приноса издвојени генотипови који су погодни за шири и ужи ареал гајења. Утврђено је и да прајмери преписани од стране *ISTA* за верификацију генотипова кукуруза могу да се користе за рутинско проверавање

генетичке униформности инбред линија кукуруза. Нарочито су значајни маркери који су тестирањем појединачних семена идентификовали линије са присуством атипичних алела. Информације о *SSR* маркерима добијене у овој дисертацији биће од помоћи у стварању комерцијалног семена хибрида кукуруза и процени генетичке униформности.

Узимајући у обзир све претходно изнето, укључујући добијене резултате њихов обим, практични и научни допринос, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију Анике Ковинчић, мастер инжењера пољопривреде под насловом „**Агро-морфолошка карактеризација и процена генетичке униформности инбред линија кукуруза**“ и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену и тако омогући кандидату јавну одбрану ове докторске дисертације.

Београд – Земун
Датум: 21. 5. 2025. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

др Славен Продановић, редовни професор, председник
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
(ужа научна област: Оплећењивање биљака)

др Ирена Радиновић, доцент, члан
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
(ужа научна област: Генетика и оплећењивање биљака)

др Наталија Кравић, научни саветник, члан
Институт за кукуруз „Земун Поље“,
(ужа научна дисциплина: Генетика и оплећењивање биљака)

ИЗВЕШТАЈ О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације под насловом „Агро-морфолошка карактеризација и процена генетичке униформности инбред линија кукуруза“, ауторке Анике Ковинчић, констатујемо да је утврђено подударање текста које износи 17%. Овај степен подударности је последица употребе цитата, личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, општих и стручних израза, као и претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су проистекли из његове дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника. На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујемо да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Ментори:

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

др Ксенија Марковић, виши научни сарадник
Институт за кукуруз „Земун Поље“ (ужа
научна дисциплина Генетика и физиологија)