

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

Датум: 09. 02. 2024.

Предмет: Извештај Комисије о оцени урађене докторске дисертације кандидата Кристине Милишић, мастер инж.

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду бр. 32/23-7.1. од 27.12.2023. године, именовани смо у Комисију за оцену урађене докторске дисертације кандидата Кристине Милишић, мастер инж., под насловом: „**Морфолошка и молекуларна карактеризација винских сорти винове лозе**“.

Комисија у саставу др Саша Матијашевић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Драган Николић редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Зоран Пржић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Ана Вуковић Вимић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду и др Драгослав Иванишевић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду прегледала је и оценила докторску дисертацију и о томе подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Кристине Милишић, мастер инж., под насловом „**Морфолошка и молекуларна карактеризација винских сорти винове лозе**“, је написана на 123 стране текста формата А4, од којих је 115 нумерисано. Дисертација садржи 12 табела, 5 графикона и 3 слике. Испред основног текста налази се сажетак са кључним речима на српском и енглеском језику, као и приказ садржаја дисертације. Докторска дисертација садржи десет основних поглавља: 1. Увод (стр. 1-3); 2. Циљ истраживања (стр. 4); 3. Хипотезе (стр. 5); 4. Преглед литературе (стр. 6-27); 5. Објекат, материјал и методе (стр. 29-50); 6. Агроеколошки услови локалитета (стр. 51-53); 7. Резултати истраживања (стр. 56-77); 8. Дискусија (стр. 79-91); 9. Закључак (стр. 92-94); 10. Литература (стр. 96-111). Поглавља: Преглед литературе; Објекат, материјал и методе; Резултати истраживања и Дискусија садрже више потпоглавља. У докторској дисертацији је цитирано и у литератури наведено 274 референце. На крају текста дисертације налазе се: Биографија (стр. 111); Изјава о ауторству (стр. 112); Изјава о истовестности штампане и електронске верзије докторског рада (стр. 113) и Изјава о коришћењу (стр. 114-115).

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Увод. У уводном делу дисертације дат је осврт на генезу настанка представника рода *Vitis* фамилије *Vitaceae* и њихову распрострањеност. Најстарији представници рода *Vitis* јављају се током епохе терцијара, тачније горње креде, пре неких 120–55 милиона година. Једини познати поуздани фосилни остатак ове врсте са простора Србије представљају семенке винове лозе неидентификованог рода са Црвеног Брега на обали Дунава западно од Гроцке, старости око 7 милиона година (доњи плиоцен), налазишта које обилује фосилним остацима разних биљака. У мезолитику (10.000–6500. п. н. е.), периоду каменог доба, јављају се и представници европско-азијске шумске дивље лозе *Vitis silvestris* Gmel., која се и у савременом добу може наћи на простору Европе, Азије и северне Африке.

Први археолошки налази о заступљености винове лозе, односно њених дивљих облика врсте *Vitis silvestris* Gmel., на територији Србије нађени су на простору Лепенског вира на десној обали Дунава у Ђердапској клисури, где се током борела 6700–5500 п. н. е. развијала посебна култура људске заједнице. Појава дивље лозе (*Vitis silvestris*), која се у овом периоду јавља на обали Дунава код Ђердапа, одговара и геолошким сазнањима о њеној појави и распрострањености у свету и на нашим просторима.

Истичући хемијски састав и нутритивне вредности производа од винове лозе, кандидат наводи да оне првенствено зависе од хемијског састава грожђа и процеса у току прераде. Прерадом грожђа добија се врло широка палета производа која обухвата ферментисане производе као што су: вино, лозовача, комовица, винско сирће и неферментисане производе у које се убрајају: сокови, слатко, пекmez, џем, компоти и грожђани сируп. Око 71% грожђа користи се за производњу вина, 27% за употребу у свежем стању и 2% за сушење (Conde et al., 2007).

Наводећи значај представника фамилије *Vitaceae*, кандидат истиче да гајена винова лоза спада у ред најстаријих и најзначајнијих пољопривредних култура. Говорећи о бројности, наводи да фамилија *Vitaceae* обухвата 11 родова са око 678 врста. Такође наводи да постоји велики број сорти различитих намена: око 9.500 винских сорти, близу 4.500 стоних сорти, више од 1.200 сорти комбинованих својстава и око 110 сорти за сушење, али и даље постоји велик број сорти чији је генотип непознат и чије карактеристике су делимично описане. Одавно је уочена несразмера у заступљености сорти на светском тржишту у поређењу са сортама које се чувају у колекционим засадама. Приближан број различитих сорти винове лозе које се чувају у колекцијама широм света износи око 10.000.

Због што правилнијег идентификовања и вредновања сорти кандидат истиче да је потребно извршити њихову морфолошку и молекуларну карактеризацију одговарајућим методама. Морфолошка карактеризација у првом реду ослања се на примени различитих врста дескриптора. Помоћу ових дескриптора описују се особине најважнијих органа винове лозе (ластар, рашљика, лист, цвет, грозд, бобица, семенка). Као знатно поузданије методе за детерминацију сорти кандидат истиче молекуларне методе које се заснивају на анализи генетске информације „записане“ у молекулу ДНК уз употребу молекуларних маркера. Карактеризација са молекуларним маркерима је поузданија у поређењу са амфелографском карактеризацијом, због могућности анализе током целе године, веће прецизности и могућности поређења у различитим лабораторијама. Последњих година успостављене су различите технике за карактеризацију сорти на нивоу ДНК (RFLP, RAPD, AFLP, SCAR, SNP и SSR маркери) и изоензима. За прецизну идентификацију сорти винове лозе најпогоднија је анализа

SSR маркера и то за 9 микросателитских локуса. SSR маркери су поуздани при сортној идентификацији и одређивању синонима и хомонима, као и приликом утврђивања филогенетског и географског порекла сорти.

Циљ истраживања и основне полазне хипотезе. Генофонд рода *Vitis* чува се *ex situ in vivo* у пољским условима, или ампелографским колекцијама. Очување генофонда винове лозе је од суштинског значаја за очување генетичке разноликости и ресурса који су од кључног значаја за виноградарску производњу. У ампелографским колекцијама се гаје различите сорте винове лозе како би се омогућило проучавање њихових фенотипских карактеристика, генетске варијабилности и других релевантних фактора.

На основу увида у проблематику очувања генетичких ресурса и значаја појединих сорти винове лозе за гајење у одговарајућим локалитетима Србије као најважније циљеве ове докторске дисертације кандидат наводи следеће:

Спровођење морфолошке карактеризације испитиваних сорти на основу ампелографских дескриптора, проучавањем особина младог ластара, младог листа, ластара, цвета, одраслог листа, грозда и бобице, као и значајних особина које одређују њихову привредно-технолошку вредност. На основу ових истраживања омогућиће се лакша идентификација сорти која је значајна за очување њиховог генетичког идентитета приликом гајења у различитим агроколошким условима.

Молекуларна карактеризација - генотипизација испитиваних сорти помоћу SSR маркера кроз дефинисане PCR протоколе. На основу ових анализа доћи ће се до оцене степена полиморфизма између сорти и група сорти.

Кластер анализа за груписање генотипова - циљ је применити кластер анализу како би се генотипови груписали на основу сродности и удаљености. Груписањем генотипова олакшава се идентификација сличности међу њима и њихово класификовање у одређене групе и олакшава се избор потенцијалних родитеља за укрштање у програмима оплемењивања винове лозе.

На крају на основу добијених резултата извршиће се анализа откривених генетских односа унутар и између генотипизираних сорти у односу на бројне референтне базе података чиме ће се доћи до закључка да ли одређене испитиване сорте представљају синониме или хомониме, а све у сврху њихове даље привредно-технолошке евалуације и могућности гајења.

Преглед литературе. Ово поглавље састоји се из седам потпоглавља у којима су представљени до сада објављени подаци из литературе у вези са предметом проучавања докторске дисертације. У потпоглављу *Виноградарство у Србији*, кандидат наводи погодност климатских и земљишних услова за гајење винове лозе, такође износи тренутно стање у погледу заступљености и структури сортимента и преглед површина под виноградима. Затим у потпоглављу *Генетички ресурси винове лозе*, кандидат образлаже проблематику идентификације сорти због постојања великог броја синонима и хомонима и истиче да су то главни проблеми за тачно одређивање броја сорти винове лозе у свету. У потпоглављу *Ампелографска идентификација сорти винове лозе*, кандидат износи значај морфолошких особина за идентификацију сорти винове лозе као и историјски развој методологије. Такође наводи да се за опис сорти користе дескриптори на основу којих се утврђују карактеристике по систему шифри-кодова „*Codes des varietes et especes de Vitis*”, а које су дефинисале најзначајније међународне организације у овој области: Интернационални савет за биљне генетичке ресурсе (*International Plant Genetic Resources Institute - IPGRI*), Међународна унија за заштиту нових биљних сорти (*International Union for the Protection of New Varieties of Plants - UPOV*) и Међународна организација за винову

лозу и вино (*International Organisation of the Vine and Wine - OIV*). За опис сорте на основу наведених дескриптора користе се најчешће врх младог ластара, млад лист, развијен лист, цвет, грозд, бобица, семенка и зрео ластар, уз напомену да се број обележја која се описују стално повећава уз допуну метода испитивања које у великој мери могу допринети детерминацији сорти винове лозе. У потпоглављу *Микросателити*, кандидат приказује значај микросателита за дескрипцију сорти винове лозе. Такође истиче да је за молекуларну идентификацију сорти винове лозе најпогоднија анализа SSR маркера и то за 9 микросателитских локуса (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62 и VrZAG79). Карактеризација са молекуларним маркерима је поузданија у поређењу са ампелографском карактеризацијом због веће прецизности, могућности анализе током целе године и поређења у различитим лабораторијама. У потпоглављу *Резултати рада на маркерима*, кандидат наводи бројне изворе литературе који показују успешност и поузданост карактеризације микросателита и SSR маркера у доказивању генетске варијабилности између сорти винове лозе, као и доказе о родитељском пореклу данас веома познатих и гајених сорти винове лозе. У потпоглављу *Фенолошке особине сорти*, кандидат даје приказ најважнијих фенолошких фаза у годишњем циклусу развоја винове лозе, и истиче значај њиховог познавања у датим агроеколошким условима. У потпоглављу *Утицај климатских чинилаца на фенолошке особине и карактеристике сорти*, кандидат анализира утицај климатских чинилаца на одвијање најважнијих фенолошких појава, али и утицај на испољавање квалитета гроздја.

Објекат, материјал и методе. У склопу овог поглавља налазе се три потпоглавља, у оквиру којих су описани објекат, материјал и методе истраживања примењене у оквиру докторске дисертације. У делу који се односи на *Објекат* кандидат наводи да су испитивања обављена су на О.Д. „Радмиловац“ Пољопривредног факултета Универзитета у Београду. Ово огледно добро припада Београдском рејону, Грочанском виногорју. У склопу потпоглавља *Материјал* кандидат наводи да је као материјал у дисертацији коришћено 30 сорти винове лозе које по свом пореклу припадају различитим еколошко-географским групама. Сорте су посађене у колекционом засаду винове лозе који је подигнут у периоду 1991-1993. година, на растојању 3 x 1 m и окалемљене на подлогу *Berlandieri* x *Riparia* Kober 5 ВВ. У оквиру овог потпоглавља налази се *Опис сорти*, где кандидат даје опис најважнијих ампелографских карактеристика испитиваних сорти винове лозе. У потпоглављу *Методе* кандидат описује начине и поступке прикупљања података за потребе дисертације. У склопу овог потпоглавља има пет потпоглавља. Лабораторијска испитивања су вршена у лабораторијама Института за хортикултуру, лабораторији за молекуларну карактеризацију и идентификацију воћака и винове лозе Пољопривредног факултета Универзитета у Београду и лабораторијама Биотехничког факултета Универзитета у Љубљани. Потпоглавље *Методе ампелографских истраживања*, обухвата приказ ампелографске карактеризације тридесет сорти, намењених углавном за производњу вина (23 сорте) и пореклом од врсте *Vitis vinifera* L., док 7 сорти чине сорте са комбинованим својствима. Праћене су 45 карактеристике у два узастопна вегетациона периода: 2016 и 2017. године. Ампелографска карактеризација обухватила је опис младог ластара (3 карактеристике), ластар (5 карактеристика), млад лист (2 карактеристике), развијен или одрасли лист (15 карактеристика), тип цвета (1 карактеристика), грозд (6 карактеристика), бобица (9 карактеристика) и фенологија (3 карактеристике). Са нумерисаних чокота у одговарајућим фенофазама винове лозе узети су и анализирани наведени узорци по методологији установљеној у *Cost action FA1003-GRAPENET*.

Фенолошке особине сорти као део потпоглавља *Методe*, приказује како је вршено евидентирање појединих фенофаза. Све сорте су праћене на терену помоћу ВВСН идентификационе скале за фенолошке фазе растења винове лозе (Lorenz et al., 1994). Одређене су следеће фенолошке особине сорти: почетак сузења, почетак развоја окаца, цветање, пораст бобица, почетак шарка и сазревање грожђа.

Принос грожђа садржи опис начина одређивања приноса. Наиме, у периоду бербе грожђа, мерењем масе свих гроздова са чокота је утврђен принос грожђа (kg/чокоту), број гроздова по чокоту, а рачунским путем је израчунат принос грожђа по јединици површине (kg/ha) У потпоглављу *Методe молекуларних истраживања*, дат је детаљан приказ свих корака и поступака у циљу добијања потребних резултата. У оквиру овог потпоглавља дато је укупно седам корака: Први корак је *екстракција укупне ДНК*, која је обављена из младих, свежих листова испитиваних сорти. У другом кораку итвршено је *мерење концентрације ДНК*, које је изведено помоћу "Implen NanoPhotometer P300". Након читавања концентрације, узорци су чувани на температури од -20°C. Трећи корак је *PCR амплификација*, у овом сегменту коришћена је PCR реакција за ланчано умножавање микросателитске ДНК („*Polymerase Chain Reaction-PCR*“). Коришћен је PCR уређај "Eppendorf Master Cycler Nexus GSX1". У четвртном кораку обављана је *анализа микросателита*, изабрани сет чинило је девет микросателитских локуса, и то: VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62 и VrZAG79. Ови локуси су изабрани због њихове високе полиморфности, што значи да имају више алела у популацији, чинећи их корисним за анализе генетског варијабилитета. Сви "*forward*" прајмери су обележени флуоресцентним бојама: 6-FAM, VIC, PET или NED. Ове боје омогућавају различито обележавање фрагмената ДНК који су амплификовани на сваком локусу. То олакшава идентификацију различитих алела у анализама. Пети корак је обухватао припрему узорака за капиларну електорфорезу. У шестом кораку обављан је процес *капиларне електорфорезе*, за раздвајање и визуализацију PCR продуката коришћен је капиларни секвенционер „ABI 3130XL Genetic Analyzer“ (*Applied Biosystems, US*). У седмом кораку обављана је *анализа добијених података*, амплификовани алели су анализирани уз помоћ софтвера „GeneMapper® 3.7 (*Applied Biosystems, US*)“ у који се “увозе“ FSA датотеке са подацима добијеним из капиларног секвенционера датотеке „ABI 3130XL Genetic Analyzer (*Applied Biosystems, US*)“. SSR локуси су приликом анализе окарактерисани по квалитету амплификационих продуката. У „GeneMapper® 3.7 (*Applied Biosystems, US*)“ софтверу добијени су подаци о присутности и дужини алела и величини флуоресцентног сигнала. Подаци о дужини алела су сачувани у Excel датотеци, записани у двоколонском формату где се два пута записује дужина алела на хомозиготу и дужина алела на хетерозиготу, три алела код триплоида, а у изузетним случајевима и три алела код диплоидних сорти. Добијени подаци су првенствено коришћени за поређење са неким референтним сортама за сортну идентификацију. На крају су анализирани откривени генетски односи унутар и између генотипизираних сорти, у односу на бројне референтне базе података.

Потпоглавље *Анализа резултата* у оквиру потпоглавља *методe* садржи опис обраде и приказивања података добијених током двогодишњег периода истраживања. Морфолошке карактеристике су обрађене и приказане уз коришћење софтверског пакета ‘Statistica’ (*StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, USA*). За процену односа између сорти примењена је Кластер анализа, а РСА анализа се користила за утврђивање варијабилности између података. Добијени резултати су приказани табеларно, графички и путем кластер дендограма.

Агроеколошки услови локалитета у оквиру овог поглавља налазе се два потпоглавља. У потпоглављу *Резултати анализа метеоролошких података за локалитет Радмиловац*, кандидат табеларно и графички даје приказ најважнијих климатолошких показатеља. Приказане су средње месечне и годишње температуре ваздуха, као и за вегетациони период април-октобар, за климатски период 1961-2010 и за године током којих се спроводио оглед, за 2016. и 2017. годину. Такође приказане су и суме падавина, средње вредности за период 1961-2010 и посебно вредности за 2016. и 2017. годину. На основу вредности климатолошких параметара израчунате су вредности најважнијих виноградарских индекса. У другом потпоглављу *Климатски услови на локалитету Радмиловац и временски услови током 2016. и 2017. године*, кандидат даје анализу климатолошких показатеља и поређење са вишегодишњим периодом. По наводима кандидата обе године током које су спровођени огледи (2016. и 2017.) су биле топлије од просека за климатски период 1961-2010 (за 1,9°C), док је 2017. била специфична по екстремно топлим условима током лета. Средње годишње вредности температуре ваздуха у обе године су износиле 13,3°C. Током 2016. године пало је за 21% више падавина од просека за 1961-2010, а током 2017. године за 20% мање. Током 2016. године просечна температура за сваки месец осим октобра и децембра је била виша од просечних вредности за климатски период 1961-2010. У 2017. години једино је јануар био хладнији од просека за 1961-2010, и то за чак 3,6°C. Сви остали месеци су били топлији од просека за климатски период. Током летњег периода (јун, јул и август) средње месечне температуре су биле више за 3,5°C од климатског просека. Највеће одступање било је у августу, који је чак за 4,3°C имао вишу температуру него просек за август у периоду 1961-2010. Изузетно су били топли и март, као и децембар. Падавински услови током огледних година се знатно разликују. У 2016. години највише је падавина пало у јуну, чак 133 mm, што је за тај месец 46% више од просека за 1961-2010. У марту је пало 103 mm (више него дупло од климатског просека). У августу је пало 90 mm, што је 70% више од климатског просека. У 2017. години током 9 месеци је било мање падавина од просека. Нарочито је важно истаћи да су током јуна, јула и августа месечне суме падавина биле мање у опсегу 54-62%.

Издвојени климатски индекси показују да су током вегетационог периода (април-октобар) били топлији услови од климатског просека за 1961-2010. Средња температура за вегетациони период 2016. године била је 18,7°C (за 1,6°C више од климатског просека), а 2017. године 19,3°C (за 2,2°C више од климатског просека). Топлије услове током вегетативног развоја потврђују и вредности Winkler-овог и Huglin-овог индекса, као и више вредности Индекса свежине ноћи. Вредности Winkler-овог индекса показују, узимајући у обзир и промене климатских услова, да топлотни услови на локалитету прелазе у услове које одговарају региону III (2016. година), па чак и IV у екстремно топлим годинама (2017. година). Вредности Huglin-овог индекса за године 2016. и 2017. такође показују промену климатске категорије, као што показују и анализе климатских промена, а то је прелазак у категорију „топле“.

Резултати истраживања. Резултати истраживања приказани су јасно и концизно у седам потпоглавља, уз одговарајућа објашњења, графиконе и табеле које употпуњују добијене резултате, тако да читалац може да прати ток објављених истраживања. У потпоглављу *Анализа ампелографских карактеристика сорти*, кандидат износи резултате ампелографског описа 30 сорти на основу 45 ампелографских карактеристика. Резултати су приказани табеларно, а затим је извршена анализа добијених оцена за свако обележје по на особ и по испитиваним сортама. На основу анализа ампелографског описа 45 карактеристика извршено је груписање сорти на основу заједничких карактеристика уз помоћ дендограма, што је

приказано у потпоглављу *Дендограм ампелографских карактеристика*. На основу заједничких ампелографских карактеристика, кандидат наводи да се јасно издвајају три групе, које чине приближно исти број варијетета унутар сваке групе. Прва група се састоји од 10 сорти, са 4 подгрупе. *Прву подгрупу* у оквиру ове групе чине сорте: Жупски бојадисер, Аликант буше и Прокупац. Од укупно 45 особина, Жупски бојадисер и Аликант буше имају 32 сличне карактеристике. Придружује им се и Прокупац са 22 заједничке карактеристике. Разлике између ове три сорте се могу уочити у карактеристикама младих листова, а када је реч о одраслим листовима, у броју исечака у расподели антоцијана врха младог ластара, облика попречног пресека зрелог ластара, облика зубаца, густини полеглих и усправних длачица, дубини горњих латералних синуса, дужини петелке, облику грозда, дужини и ширини бобице. У *другој подгрупи* сорта Плавина велика је сличнија сорти Кадарун него сорти Плавина мала. Разлике између Плавине велике и Плавине мале испољиле су се у карактеристикама младих ластара (OIV 004, OIV 006), младих листова (OIV 051, OIV 053) и зрелих листова (OIV 067, OIV 068, OIV 070, OIV 072, OIV 074, OIV 075). *Трећој подгрупи*, припадају сорте Ruby Cabernet (Carignan × Cabernet-Sauvignon) и Багринa значајно се разликују по типу цвета, али су сличне по 21 особини. *Последњу подгрупу* чине сорте Памид и Братковина црна, које деле 30 сличних ампелографских карактеристика. Другу групу чини 8 сорти, подељених у три подгрупе. У *првој подгрупи* издвајају се Црни Марсељац (Noir Hatif de Marseille) и Франковка, којима се придружује сорта Српски рубин. Сорта Динка мирисава значајно се разликује од три наведене сорте, на основу ампелографских карактеристика. Важно је истаћи да се Динка мирисава значајно разликује на основу боје врха младог ластара, карактеристикама одраслог листа, грозда, бобице и у фенологији. У оквиру сорти из прве подгрупе (Франковка, Noir Hatif de Marseille и Српски рубин) у оквиру групе Б постоје значајне разлике у ампелографским карактеристикама врха младог ластара и одраслих листова. *Другу подгрупу* у оквиру друге групе чине сорте Кадарка и Рудежуша црна. Ове две сорте имају 33 заједничке ампелографске карактеристике, али се разликују у боји врха младог ластара, већини карактеристика одраслог листа, плодности базалних пупољака. *Трећу подгрупу* у оквиру друге групе чине сорте Piccola Nera и Бабић велики. Сличне су у 33 ампелографске карактеристике, а разликују се у карактеристикама младог ластара, одраслог листа, боји покожице и плодности. *Трећу групу* чини 12 сорти, са пет подгрупа. *Прву подгрупу* у оквиру треће групе чине сорте Вранац и Ласина, које имају 31 сличну ампелографску карактеристику. *Другу подгрупу* чине сорте Cot и Gamma бојадисер, које такође деле 31 сличну карактеристику. Утврђене су разлике у боји ластара, леђној страни интернодија, карактеристикама одраслог листа, дужини и облику грозда, дужини и ширини бобице и у фенологији. *Трећу подгрупу* ове групе чине Каберне совињон, Каберне совињон клон 10/32 и Каберне совињон клон Радмиловац, који имају 33 ампелографске карактеристике, а разликују се по боји трбушне стране интернодије, карактеристикама зрелих листова и фенологији. *Четврту подгрупу* чине клон Каберне франк 21/20, Коевидинка и Крајински бојадисер (Gamma noir × Gamma Tenturier), који имају 19 заједничких ампелографских карактеристика, а разликују се по младим ластарима, зрелим листовима и фенологији. Последњу подгрупу у трећој групи чине сорте Станушина црна и Pinot noir клон 658-12. Они су слични у 28 ампелографских карактеристика, са разликама у младом листу (тј. пигменту горње стране предњег дела листа – четврти лист), облик попречног пресека зрелог ластара, присуству антоцијана главних нерава лица листа, дужини и облику грозда и бобица и фенологији. У потпоглављу *Анализа приноса, маса грозда и бобице* које је саставни део ампелографских испитивања,

кандидат даје приказ просечних вредности за масу грозда, масу бобице и принос грожђа. На основу добијених вредности за дата обележја кандидат класификује сорте према маси грозда, маси бобице и приносу грожђа. Тако, кандидат истиче да средњу масу грозда имају сорте Аликант буше и Српски рубин као и Гренаш црни. Врло велику масу грозда је имао само Вранац као и Trebbiano toscano, док су све остале сорте имале малу масу грозда. Крајински бојадисер је имао средњу масу бобице, а остале сорте малу масу бобице. Веома мали принос су имале сорте Каберне совињон клон 10/32 и Каберне совињон популација сорте. Мали принос је био код сорти: Бабић велики, Братковина црна, Багрин, Каберне франк клон 21/20, Каберне совињон клон Радмиловац, Франковка, Гаме бојадисер, Ласина, Црни марсељац (Noir Hatif de Marseille), Бургундац црни клон 658-12, Плавина мала, Пловдина и Ruby Cabernet. Средњи принос имале су сорте Аликант Буше, Динка мирисава, Cot, Piccola Nera, Плавина велика, Рудежуша црна, Српски рубин и Жупски бојадисер. Висок принос су имале сорте Коевидинка, Крајински бојадисер, Кадарка, Станушина црна и Вранац. Веома висок принос су имале сорте Кадарун и Прокупац.

У потпоглављу *Фенолошка осматрања*, кандидат даје приказ средњих датума најважнијих фенолошких појава, односно фенофазе сузења, бубрења окаца, цветања, шарка грожђа и сазревања ластара. Од посматраних фенофаза, појава шарка се показала као фенофаза у којој су се сорте највише разликовале. Уз ову чињеницу треба имати у виду и топле летње услове током година огледа, који су највероватније у различитој мери по сортама утицале на одвијање ове фенофазе, поред самих карактеристика сорти. Сорта Аликант буше је имала просечно најраније започињала фазу сузења (ВВСН 00-01) која је била 15.03. Најкасније је ова фенофаза (19.03.) утврђена код чак 11 сорти (Багрин, Братковина црна, Динка мирисава, Гаме бојадисер, Ласина, Црни Марсељац (Noir Hatif de Marseille), Плавина мала, Прокупац, Српски рубин, Станушина црна и Жупски бојадисер). Бубрење окаца (ВВСН 05-08) се одвијало у интервалу од 9.04. до 16.04. Код сорте Братковина црна било је најраније, док је код сорти Каберне совињон, Динка мирисава и Црни Марсељац (Noir Hatif de Marseille) било најкасније. Пуно цветање (ВВСН 65) код испитиваних сорти одвијало се у интервалу од 03.06. до 08.06. Просечно најраније је евидентирано код сорти Франковка, Ласина, Cot и Српски рубин (03.06.), док је најкасније утврђено код сорте Бабић велики (08.06.). Почетак фенофазе сазревања грожђа је регистрован променом боје покожице (шарак грожђа) (ВВСН 83-85) и најраније је био код сорте Жупски бојадисер (13.08.), а најкаснији код Каберне совињона клон 10/32 (28.08.). Фенофаза сазревања ластара (ВВСН 91-97) у испитиваним годинама најраније је почињала 07.10. код 3 сорте (Гаме бојадисер, Piccola nera и Рудежуша црна), док је 11.10. забележен као најкаснији датум ове фенофазе такође код 3 сорте (Аликант буше, Бабић велики и Франковка).

У потпоглављу *Анализа молекуларних маркера*, кандидат даје табеларни нумерички приказ вредности о дужини амплификованих алела DNK изражених у броју парова база (bp). Такође кандидат истиче да код појединих локуса сорти нису добијени алели што се такође приказано у одговарајућој табели. За сваки микросателит исказане су две вредности, два алела која када су идентична представљају хомозиготно стање, а када се разликују представљају хетерозиготно стање локуса. Приликом анализе искључен је маркер VVMD5 и сорта Кадарун због слабе амплификације, тако да су добијени резултати за 8 микросателитских локуса. Показатељи генетичке варијабилности испитиваних сорти приказани су у потпоглављу *Основни показатељи генетичке варијабилности микросателитских маркера винове лозе*, кандидат наводи да су за карактеризацију SSR генетичког диверзитета, анализирани број алела,

учесталост алела, опсег величине фрагмената (алела), добијена хетерозиготност (X_0), очекивана хетерозиготност (X_e), и садржај информација о полиморфизму (PIC) за сваки SSR маркер. Ови показатељи пружају детаљне информације о генетичкој варијабилности винове лозе на одређеним SSR маркерима. Број алела по локусу кретао се од 4 (VVMD25) до 12 (VVMD28 и ZAG62), са просеком од 9 алела, што показује висок ниво варијабилности у скупу узорака. Уочена вредност хетерозиготности (X_0) кретала се од 0,64 (VVMD32 и VVMD7) до 0,85 (ZAG62) са средњом вредношћу 0,75, док је очекивана хетерозиготност (X_e) варијала од 0,64 (VVMD25) до 0,90 (VVMD28) са средњом вредношћу од 0,80. У потпоглављу *Дендограм молекуларних карактеристика*, кандидат износи да на основу добијених вредности о дужини амплификованих алела, броја алела и њиховој учесталости, опсега величине фрагмената алела, добијене и очекиване хетерозиготности све испитиване сорте на основу анализе молекуларних маркера се могу сврстати у три групе. *Прва група* се састоји од 18 сорти, са 6 подгрупа. *Прву подгрупу* у оквиру прве групе чине сорте Жупски бојадисер, Црни марсељац (Noir Hatif de Marseille) и Бургундац црни клон 658-12. Имали су по један исти алел код свих микросателитских маркера (VVS2=133, VVMD28=217, VVMD7=265, ZAG79=258, VICVVMD27=205 VVMD25=257 и 259, VVMD32=286 и ZAG62=205), док се Бургундац црни клон 658-12 разликује у локусу ВВМД7. *Другу подгрупу* обухватају Крајински бојадисер и Гаме бојадисер који се слажу код свих микросателитских маркера, односно добијени су исти алели на оба локуса, осим код VVMD7, VVMD32 и ZAG62 где је добијен само један исти алел. Динка мирисава, Бабић велики и Аликант буше чине *трећу подгрупу* и оба алела се подударају код локуса VICVVMD27 и VVMD25, а код локуса ZAG62 није добијен ниједан исти алел, док је на осталим локусима добијен по један алел. У *четврту подгрупу* спадају сорте Српски рубин, Прокупац и Кадарка. Прокупац и Српски рубин имају исте алеле код локуса VVMD7, ZAG79, VICVVMD27, а Кадарка и Српски рубин код VVS2 и VVMD25, Прокупац је код VVS2 имао један алел који се подудара са Кадарком и Српским рубином, док код локуса ZAG79 није имао ниједан алел који се подудара са наведеним сортама. Код локуса VVMD28 је добијен по један алел. *Пету подгрупу* чине сорте Плавина мала и Плавина велика које се разликују код локуса VVMD32 и ZAG62, док су код осталих локуса добијени исти алели. Последњу *шесту подгрупу* чине Каберне совињон клон Радмиловац, Каберне совињон, Каберне франк клон 21/20, Сот и Рудежуша црна. Каберне совињон клон Радмиловац и Каберне совињон популација сорте су имале оба иста алела на локусима VVMD28, VVMD7, ZAG79, један алел на локусу VICVVMD27, док је Каберне франк клон 21/20 добио један алел на локусу VVS2, а Рудежуша црна један алел на локусу VVMD28, VVMD7, док код локуса ZAG79, VVS2, VICVVMD27 и VVMD32 није добијен ниједан алел који се подудара са наведеним сортама. *Другу групу* се састоји од 9 сорти са 3 подгрупе. *Прву подгрупу* чине Каберне совињон клон 10/32, Франковка и Ruby Cabernet где су Франковка и Каберне совињон клон 10/32 добили по један заједнички алел на локусима VVMD28 и VVMD7, док су Ruby Cabernet и Каберне совињон клон 10/32 имали заједнички локус ВВМД7, док су се у свим осталим локусима разликовали. *Другу подгрупу* обухватају сорте Ласина, Памид и Братковина црна. Ласина и Памид су имали исте алеле код локуса VVS2 и VVMD25, Братковина црна и Памид код локуса VVMD7, ZAG79, VICVVMD27. Ласина је код локуса VVMD7 и VICVVMD27, Братковина црна код локуса VVMD25 добили један алел који се подудара са наведеним сортама. Братковина црна и Памид се подударају у једном алелу код локуса VVMD32. Piccola Nera, Кевидинка и Вранац чине *трећу подгрупу*, друге групе сорти и све три сорте се подударају код локуса VVS2. Piccola Nera и Кевидинка се подударају у оба

алела код локуса VVMD7, као и Piccola Nera и Вранац у VICVVMD27. Код локуса VVMD28 нема подударности. *Трећу групу* чине сорте Станушина црна и Багина које се подударају у оба алела код локуса VVS2 и VVMD25, и у једном алелу у локусима VVMD7, ZAG79, VICVVMD27, VVMD32 и ZAG62. На крају кандидат наводи да упоређујући ампелографске особине и молекуларне маркере, може се запазити да постоје три групе сорти унутар сваког дендрограма. Сличан број сорти у свакој групи налази се на ампелографском дендрограму, а ова подударност се заснива на 31-32 карактеристике, од укупно 45.

Дискусија. У поглављу Дискусија коментарисани су резултати истраживања у дисертацији и упоређени са резултатима других аутора који су радили на истој и сличној проблематици. Кандидат је дискутовао добијене резултате нагласивши да су они углавном у складу са већином доступних литературних података. Такође су тумачена и одступања добијених резултата од података у оквиру докторске дисертације у односу на литературне изворе. Дискусија је првенствено базирана на упоређивању ампелографских карактеристика са референтним европским базама података за различите сорте винове лозе. Употреба OIV дескриптора доприноси систематичном приступу карактеризацији и опису чокота. Добијени подаци могу бити од помоћи за боље разумевање варијабилности одређених сорти у различитим агроеколошким условима. Кандидат наводи да дескриптори помажу у стандардизацији описа винове лозе што је важно за идентификацију, карактеризацију и класификацију сорти. Докторанд такође наводи и литературне изворе из којих се може закључити да је у последњих неколико деценија извршена ампелографска и молекуларна карактеризација већег броја различитих сорти од којих значајно место заузимају аутохтоне сорте из земље и региона. У дискусији докторанд детаљно наводи OIV кодове за сваку особину по сортама и њихову подударност или различитост са отвореном базом података *Vitis* и другим базама. И како докторанд истиче да молекуларна анализа може пружити прецизне информације о генетичким карактеристикама сорти винове лозе и да се често за ову анализу користе микросателитски (SSR) маркери, у оквиру дискусије мали сегмент је посветио управо овој проблематици.

Према кандидату, али и ранијим истраживањима, средњи датуми почетка и трајања фенолошких фаза су условљени карактеристикама сорте, али и варирањима између година које некада имају већи значај услед осетљивости винове лозе на климатске чиниоце, а у новије време и на климатске промене. Проучавајући фенологију различитих сорти винове лозе у агроеколошким условима Грочанског виногорја са циљем описа сорти кандидат се слаже са истраживањима других аутора да ово виногорје има повољне услове за одвијање фенолошких фаза развоја као и да се сорте I, II и III епохе са успехом могу гајити на локалитету Радмиловац. Такође, кандидат потврђује резултате аутора који наводе да се ВВСН скала користи као обавезна за утврђивање фенолошких фаза развоја код сорти винове лозе приликом њиховог испитивања и признавања. По овој скали је и вршена оцена фенофаза у оквиру рада на опису сорти у докторској дисертацији кандидата.

Закључак. У закључном разматрању, кандидат правилно сумира резултате, наглашавајући најважније сегменте рада који у потпуности произилазе из истраживања. Кандидат наводи да се локалитет на коме се налазио колекциони засад винове лозе са испитиваним сортама, у годинама истраживања одликовао низом специфичности у односу на вишегодишњи климатски период. Из анализе агроеколошких карактеристика локалитета Радмиловац где је био постављен оглед, закључује се да су временски услови током огледних година (2016 и 2017) били такви да осликавају промене топлотних услова услед климатских промена, јер су године биле

знатно топлије од климатског просека за период 1961-2010. година. Анализа фенолошких фаза развоја сорти винове лозе може бити од суштинског значаја за правилно управљање виноградом, одређивање оптималног времена за различите агротехничке мере, као и за планирање бербе. Карактеризација 30 сорти показује сличности и разлике између испитиваних сорти винове лозе. Према ампелографским карактеристикама све испитиване сорте обухватају три групе, које чине приближно исти број сорти унутар сваке групе. Група А се састоји од 10 сорти, са 4 подгрупе. Група Б има 8, док група Ц има 12 сорти. Подударност сорти на се заснива на 31-32 карактеристике од укупно 45.

На основу молекуларних маркера се такође све сорте могу разврстати у три групе: група Д је најбројнија са 18 сорти; група Е са 9 сорти док група Ф има само две сорте. Већина наведених сорти из ових група припада екогеографској групи *convarietas occidentalis*. Упоредјујући ампелографске карактеристике и молекуларне маркере може се уочити да постоје три групе сорти унутар сваког дендрограма. Уочена хетерозиготност је показала веће вредности од очекиване хетерозиготности у два локуса (VVS2 и VVMD25). На основу 8 микросателитских маркера је потврђен исти генетски профил за Плавину црну и Плавину малу. Удаљеност сорти Кадарка и Рудежуша црна потврђена је и SSR маркерима. Бабић велики и Вранац припадају различитим групама на основу SSR маркера. На основу SSR маркера Вранац и Ласина припадају истој групи. За сорте Каберне совинјон, Вранац, Плавину, Прокупац и Станушину потврђени су идентични алелни профили у свим упоређеним локусима. Генотипови Плавина велика, Плавина мала и Плавина црна се сматрају блиским синонимима и разликују се у 1-2 алела. За Багрину и Ласину мутације које резултирају разликом од 2 броја парова база за само 1 алел могу бити последица клоналне варијације. Унутар групе генотипова Бабић разлике су примећене у неколико локуса, али 1 алел сваког локуса је подељен међу генотиповима, што значи да ови генотипови могу имати однос родитељ-потомак. Узорци под називом Братковина, Пловдина и Аликант буше су вероватно погрешни називи јер показују различите алелне профиле из референтних података.

Литература. У дисертацији је на правилан начин цитирано 274 литературна извора. С обзиром да се ради о великом броју литературних извора, долази се до закључка да је кандидат темељно проучила дату проблематику. Избор литературних извора је актуелан, а цитирање је изведено на правилан начин.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација Кристине Милишић, мастер инж., под насловом „**Морфолошка и молекуларна карактеризација винских сорти винове лозе**“ представља оригиналан научни рад из области Виноградарства. Одабрана тема је интересантна како са научног, тако и са практичног становишта.

Рад на очувању и карактеризацији сорти винове лозе *Vitis vinifera* L. има кључну улогу у унапређењу и јачању српског виноградарства и винске традиције. У дисертацији су током 2016. и 2017. године проучаване карактеристике 30 сорти винове лозе (*Vitis vinifera* L.) из колекционог винограда Огледног добра Пољопривредног Факултета Универзитета у Београду „Радмиловац“, коришћењем 45 особина OIV дескриптора и високополиморфних микросателитских локуса (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62 и VrZAG79). Програм докторске дисертације обухватио је три целине истраживања. Прва се односи на утицај специфичности локалитета на услове гајења винове лозе. Климатске карактеристике

локалитета који припада Грочанском виногорју и Београдском рејону, одређене су на основу анализа за вишегодишњи период 1961-2010. и упоређене су са временским условима у току испитиваних година (2016-2017). Друга и трећа целина докторске дисертације односила се на морфолошку и молекуларну карактеризацију испитиваних сорти винове лозе гајених на локалитету Радмиловац, са специфичним климатским карактеристикама, добијени резултати показали су одређене сличности и разлике у између сорти. Добијени дендрограм заснован на ампелографским карактеристикама обухвата три групе сорти (А, Б и Ц). Група А се састоји од 10 сорти, са 4 подгрупе (1. Жупски бојадисер, Аликант буше, Прокупац; 2. Плавина велика, Кадарун, Плавина мала; 3. Ruby Cabernet, Багрини; 4. Памид, Братковина црна). Група Б се састоји од 8 сорти груписаних у 3 подгрупе (1. Франковка, Слатки марсељац (Noir Natif de Marseille), Српски рубин и Динка мирисава; 2. Кадарка, Рудежуша црна; 3. Piccola Nera, Бабић велики). Група Ц се састоји од 12 сорти, са 5 подгрупа (1. Вранац и Ласина; 2. Cot и Гаме бојадисер; 3. Каберне совињон, Каберне совињон клон 10/32 и Каберне совињон Радмиловац; 4. Каберне франк 21/20, Коевидинка и Крајински бојадисер; 5. Станушина црна и Pinot noir клон 658-12). Резултати испитивања показују да су квалитативне ампелографске карактеристике имале тенденцију да манифестују значајне разлике. Најчешћа одступања међу сортама унутар групе била су у карактеристици OIV 051 (боја лица младог листа). Сличан број сорти у свакој групи налази се на ампелографском дендрограму, а ова подударност се заснива на 31-32 карактеристике, од укупно 45.

Дендрограм на основу молекуларних маркера се такође састоји од три групе сорти (Д, Е и Ф). Група Д је најбројнија са 18 сорти које су разврстане у 6 подгрупа (1. Жупски бојадисер, Слатки марсељац (Noir Natif de Marseille) и Pinot Noir клон 658-12; 2. Крајински бојадисер и Гаме бојадисер; 3. Динка мирисава, Бабић велики и Аликант буше; 4. Српски рубин, Прокупац и Кадарка; 5. Плавина мала и Плавина велика; 6. Каберне совињон клон Радмиловац, Каберне совињон, Каберне франк клон 21/20, Cot и Рудежуша црна); група Е има 9 сорти у 3 подгрупе (1. Каберне совињон клон 10/32, Франковка и Ruby Cabernet; 2. Ласина, Памид и Братковина црна; 3. Piccola Nera, Коевидинка и Вранац) и група Ф има само две сорте (Станушина црна и Багрини).

Код сорте Кадарун на 8 локуса нису добијени алели, па је уклоњена са дендрограма.

Уочена вредност хетерозиготности (X_o) кретала се од 0,64 (VVMD32 и VVMd7) до 0,85 (ZAG62) са средњом вредношћу 0,75, док се очекивана хетерозиготност (X_e) кретала од 0,64 (VVMD25) до 0,90 (VVMD28) са средњом вредношћу од 0,80. Анализа откривених генетских односа унутар и између генотипизираних сорти у односу на бројне референтне базе података доводи до закључка да ли одређене испитиване сорте представљају синониме или хомониме, а све у сврху њихове даље привредно-технолошке евалуације и могућности гајења.

Научни допринос ове докторске дисертације огледа се у томе што ће обављена морфолошка карактеризација 30 сорти винове лозе омогућити лакшу идентификацију сорти, која је значајна за очување њиховог генетичког идентитета приликом гајења у различитим агроколошким условима. Молекуларна карактеризација доприноси идентификацији и правилној систематици мање истражене гермплазме аутохтоних сорти винове лозе као и гермплазми интродукованих сорти.

Добијени резултати ове докторске дисертације у потпуности испуњавају програм постављених истраживања. Кандидат се придржавао радних хипотеза и задатака које је поднео приликом пријаве докторске дисертације. Рад је написан јасним стилем и разумљивим језиком и технички је добро уређен.

Имајући у виду све претходно наведено Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију Кристине Милишић, мастер инж., под насловом „**Морфолошка и молекуларна карактеризација винских сорти винове лозе**“, и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати ову позитивну оцену и да кандидату омогући да јавно брани докторску дисертацију.

У Београду, 09. 02. 2024. године

Чланови Комисије

Др Саша Матијашевић, редовни професор
Пољопривредног факултета Универзитета у Београду.
Ужа научна област: Посебно виноградарство

Др Драган Николић, редовни професор
Пољопривредног факултета Универзитета у Београду.
Ужа научна област: Оплемењивање воћака и винове лозе

Др Зоран Пржић, ванредни професор
Пољопривредног факултета Универзитета у Београду.
Ужа научна област: Опште виноградарство

Др Ана Вуковић Вимић, ванредни професор
Пољопривредног факултета Универзитета у Београду.
Ужа научна област: Метеорологија

Др Драгослав Иванишевић, редовни професор
Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду.
Ужа научна област: Виноградарство

Прилог

Објављен рад Крстине Милишић, мастер инж., у научном часопису на SCI листи: **Milišić, K.**, Sivčev, B., Štajner, N., Jakše, J., Matijašević, S., Nikolić, D., Popović, T., Ranković-Vasić, Z. (2021): Ampelographic and molecular characterisation of grapevine varieties in the gene bank of the experimental vineyard 'Radmilovac' – Serbia. *OENO One*, 4: 129-144. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2021.55.4.4508>.

ОЦЕНА ИЗВЕШТАЈА О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације под насловом: „**Морфолошка и молекуларна карактеризација винских сорти винове лозе**“, аутора Кристине Милишић, констатујем да утврђени индекс подударности текста износи **27%**. Овај степен подударности текста последица је цитата, личних имена, библиографских података из коришћене литературе, општих места и података, као и претходно публикованих резултата докторанда, који су проистекли из његове дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујем да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Ментор

Др Зорица Ранковић-Васић, ванредни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(ужа научна област: Опште виноградарство)