

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

Београд-Земун

Датум: 27.03.2025.

Предмет: Извештај Комисије за оцену и одбрану урађене докторске дисертације Стефана Н. Степића, специјалисте инжењера пољопривреде

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду број 32/6-5.2. од 26.03.2025. године, именована је Комисија за оцену и одбрану урађене докторске дисертације Стефана Н. Степића, специјалисте инжењера пољопривреде, под насловом: **„Фенотипска и генетичка карактеризација домаћег бивола у Србији“**, те на основу прегледа и анализе докторске дисертације Комисија подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОСНОВНИ ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ И ДИСЕРТАЦИЈИ

Основни подаци о кандидату: Стефан Н. Степић, рођен је 29. децембра 1990. године у Прокупљу. Основну школу завршио је 2005. године у Блацу. Средњу пољопривредну школу – смер ветеринарски техничар, завршио је у Прокупљу 2009. године.

Пољопривредни факултет, Универзитета у Београду, одсек за Зоотехнику уписао је школске 2009/2010. године. Дипломски рад под називом „Производне особине аустријског сименталца на подручју општине Блаце“, одбранио је 30.09.2014. године са оценом 10 (десет), чиме је стекао стручни назив дипломирани инжењер пољопривреде. Основне студије завршио је са просечном оценом 9,17.

Мастер академске студије уписао је школске 2014/2015. године на истом факултету. Положио је све испите прописане студијским програмом Пољопривредне науке, модул Зоотехника и дана 15.10.2015. године одбранио мастер рад под називом „Особине музности крава“ са оценом 10 (десет), чиме је завршио мастер академске студије (II ниво студија) са просечном оценом 9,71 и стекао академски назив мастер инжењер пољопривреде.

Специјалистичке академске студије уписао је школске 2016/2017. године на истом факултету. Специјалистички рад под називом „Морфометријске особине и квалитет млека домаћег бивола на подручју Пештера“, одбранио је 25. септембра 2018. године са оценом 10 (десет). Специјалистичке академске студије завршио је са просечном оценом 9,80 и стекао право на стручни назив специјалиста инжењер пољопривреде.

Прву годину докторских академских студија уписао је школске 2015/2016. године на студијском програму Пољопривредне науке, модул Зоотехника.

Током мастер студија и прве године докторских студија био је ангажован као демонстратор у настави. Као студент докторских академских студија био је стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

Од фебруара 2017. године почиње са радом на Пољопривредном факултету

Универзитета у Београду, где је изабран у звање сарадника у настави на катедри за Одгајивање и репродукцију домаћих и гајених животиња, а од 2019. године у звању је асистента на истој катедри.

У досадашњем истраживачком и научном раду објавио је 25 истраживачких радова као аутор или коаутор, од чега су 4 у часописима са SCI (Science Citation Index) листе. Учествовао је на бројним међународним симпозијумима из сточарства и био члан организационог одбора. Такође, учествовао је у реализацији 5 домаћих и 2 међународна пројекта. Његово поље истраживања обухвата одгајивање и репродукцију домаћих и гајених животиња, анималне генетичке ресурсе, производњу млека и меса.

Члан је Научног друштва за менаџмент дивљачи (GAMEST) и Европске федерације зоотехничара (EAAP).

Основни подаци о дисертацији: Докторска дисертација Стефана Н. Степића, специјалисте инжењера пољопривреде, под насловом: „Фенотипска и генетичка карактеризација домаћег бивола у Србији“, написана је у складу са Упутством за обликовање докторске дисертације Универзитета у Београду, као и у складу са пријавом теме која је одобрена од стране Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду и Већа научних области биотехничких наука Универзитета у Београду. Докторска дисертација садржи: насловне странице на српском и енглеском језику; страницу где су наведени ментори и чланови Комисије; страницу са изјавама захвалности; сажетак на српском и енглеском језику са кључним речима, научном облашћу, ужом научном облашћу и УДК бројем; садржај; текст дисертације организован по поглављима; литературу; прилоге; биографију; изјаву о ауторству; изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и изјаву о коришћењу. Дисертација је написана на 117 страница текста (са нумерацијом) и садржи 57 табела, 15 слика, 1 графикон, 67 табеларних прилога и укупно је цитирано 207 литературних извора. Докторска дисертација садржи 7 основних поглавља: Увод (стр. 1), Преглед литературе (стр. 2 - 32), Материјал и метод рада (стр. 33 - 47), Резултати и дискусија (стр. 48 - 87), Закључак (стр. 88 - 89), Литература (стр. 90 - 102), Прилози (стр. 103 - 112). На крају текста дисертације налазе се Биографија аутора (стр. 113), Изјава о ауторству (стр. 114), Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада (стр. 115) и Изјава о коришћењу (стр. 116 - 117).

2. ПРЕДМЕТ И ЦИЉ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Предмет ових истраживања била је популација домаћег бивола која се гаји на подручју Пештера. Домаћи биво припада медитеранском бивољу, који води порекло од Азијског Арни бивола (*Bubalus bubalis*). Према различитим подацима биволи су одомаћени 6.000 до 3.000 година пре нове ере и од тада се користе за производњу млека, меса и као животиње за рад, а на територију Европе су се проширили у VI и VII веку. Биволи се сврставају међу најудаљеније сроднике домаћих говеда. Посматрајући на глобалном нивоу, константно се из године у годину повећава број бивола, а тренутно се у свету гаји више од 209 милиона јединки. С обзиром да се домаћи биволи, у зависности од регије где се гаје, могу користити у различите сврхе, настале су и различите расе бивола, намењене одређеном смеру производње. Извесне расе имају карактеристике тела млечног типа, друге радног типа, а такође постоје расе бивола које имају карактеристике тела меснатог типа. У Европи су биволи врло мало заступљени, а гаје се у југоисточној Европи и то у Бугарској, Румунији, Грчкој, Албанији, Македонији, Црној Гори, Италији, Мађарској и у нашој земљи. Последњих година формирају се фарме бивола и у земљама у којима се раније нису гајили, као на пример Великој Британији,

Немачкој и Шведској.

У Европи биволи су углавном сличне грађе. Боја им је црна, црно смеђа, до сива. Могу имати беле ознаке на глави и репу. Компактне су грађе, са широким и дубоким грудима. Виме је добро развијено, са правилним четвртима, а сисе су цилиндричног изгледа. У областима где се примењује машинска мужа (највише у Италији) вимена су боље развијена и складније грађе. Биволи се сматрају отпорнијим од говеда по питању маститиса, али и у погледу неких других болести. Међутим, биволи могу оболети као и говеда од бруцелозе, туберкулозе, пироплазмозе и других болести. Животиње које су на отвореном, отпорније су на неке болести које преносе ектопаразити, јер уколико су им доступне мочваре, биволи проводе доста времена у блату и на тај начин се штите од ових паразита и болести које они преносе.

У поређењу са другим врстама, млеко биволица заузима друго место, одмах после крављег млека, јер обезбеђује око 13 % од укупне светске производње млека. Бивоље млеко садржи мању количину воде, већи садржај масти, протеина, минерала и лактозе у поређењу са крављим млеком. Биволице које се гаје у Италији млечније су у односу на све остале медитеранске популације бивола. То је постигнуто захваљујући строгој селекцији и побољшању услова гајења. У Италији су формиран нове селекцијски индекси за унапређење популације бивола у тој земљи, који имају за циљ унапређење производње млека и меса код бивола. Циљеви данашње селекције су добијање плодних и дуговечних животиња са високом и константном производњом.

У Републици Србији биволи се највише гаје на подручју Рашке области (општине Нови Пазар, Сјеница и Тутин) и на подручју Косова, а последњих година формиране су популације и на простору Војводине. Бројност популације бивола у Србији је дужи временски период имала тенденцију смањења, због чега се последњих година спроводе мере очувања популације, што је допринело повећању броја домаћих бивола. Домаћи биво се налази на листи генетичких резерви домаћих животиња, а на подручју Пештера гаји се у запатима који представљају *in situ in vivo* облик конзервације бивола. Одликују се узаном и дугачком главом са јаким роговима, који су повијени у страну, иду уназад и пружају се врховима на горе. Врат је средње дужине и узан, а труп снажан и квадратичног изгледа. Дубина груди је изражена, док су ширине груди и трупа слабо изражене. Код домаћег бивола развијенији је предњи део тела, а леђна линија спушта се према сапима. Сапи су широке у предњем делу (бедрене кости), а уске у пределу седњачних костију, уз то су кратке и оборене. Корен репа је ниско насађен. Кости ногу су снажне, са широким папцима, што је општа карактеристика бивола. Виме код биволица је слабо развијено, са четири мамарна комплекса. Кожа је дебела и црно пигментисана, такође на вимену и сисама. Боја покровних длака код бивола креће се од тамно пепељасте до црне, а поједина грла могу имати беле ознаке на глави (цветасти биволи), доњим деловима ногу и кићанки репа. Интензитет длачног покривача зависи од услова гајења: у хладнијем периоду и код лошије ухрањених јединки длака је дужа и гушћа, док је током лета и код боље ухрањених грла краћа и ређа.

Домаћи биволи на подручју Пештера гаје се првенствено због производње млека, а мање због производње меса. Млеко служи за производњу маслаца, који се користи уместо свињске масти у кулинарству, али и за производњу сира и кајмака. Биволи се гаје на екстензиван начин, најчешће заједно са говедима. Након партуса, после колостралног периода, биволице се музу, а телад – биволчад се хране крављим млеком. Животиње се током зимског периода држе у стајама, које морају бити добро топлотно изоловане, јер домаћи биво не подноси хладноћу. У пролеће се изводе на пашу и на пашњаку су током целог вегетационог периода. Мужа је углавном ручна, али се врши и машинска мужа. Телесна маса у великој мери зависи од услова гајења. Маса новорођених биволчади се крећу у интервалу од 25 до 40 kg, док се код одраслих бивола најчешће бележи телесна

маса у распону од 450 до 600 kg, мада могу се срести и знатно масивнија грла. Разлике у телесној маси углавном су последица неуједначене исхране и неге.

Еструс код плоткиња траје 2 – 3 дана и праћен је јасним и израженим спољашњим знацима. Бременитост траје око 10,5 месеци. За разлику од неких других земаља, у Републици Србији се не спроводи вештачко осемењавање биволица, већ се примењује припуст. Животни век биволица које се користе за производњу млека може бити 15 година, а понегде се могу наћи грла која су стара 20 година. Број мушких јединки је знатно мањи и има их у оноликом броју колико је неопходно за парење.

На узорку популације домаћег бивола, обухваћеном истраживањем, циљ је био да се изврши:

- фенотипска карактеризација (испитивање морфометријских и репродуктивних особина, као и квалитет млека) домаћег бивола;
- генетичка карактеризација (фреквенција алела и генотипова варијанти гена кандидата за поједине фракције казеина (*CSN1S1* и *CSN3*), као и гена кандидата за проценат масти (*SCD* и *DGAT1*) у млеку);
- испитивање технолошких својстава млека у погледу сиришне коагулације, праћењем реолошких параметара током процеса сиришне коагулације млека плоткиња одговарајућих генотипова.

3. ОСНОВНЕ ХИПОТЕЗЕ ОД КОЈИХ СЕ ПОЛАЗИЛО У ИСТРАЖИВАЊУ

Основне хипотезе од којих се полазило у истраживању у оквиру ове докторске дисертације биле су:

- да ће на параметре морфометријских особина имати утицај већи број фактора, као и да се очекују ниже вредности ових параметара у односу на популације медитеранског бивола гајене у другим земљама;
- да ће се унутар испитиване популације домаћег бивола идентификовати грла која су носиоци генетичких варијанти које су повезане са квалитетом млека;
- да ће генотип варијанте у гену за казеин утицати на реолошка својства сиришне коагулације млека.

4. КРАТАК ОПИС САДРЖАЈА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Увод. У уводном поглављу кандидат је представио значај бивола у сточарској производњи на глобалном нивоу, указујући на филогенетску удаљеност у односу на права говеда, као и на њихову растућу популацију у свету. Истакнут је значај производње млека биволица, јер је од укупне светске производње млека друго по значају, одмах након крављег. Посебан акценат стављен је на састав млека биволица и његову погодност за прераду, нарочито у производњи маслаца и сира. Описан је начин гајења бивола у Србији (екстензивни систем). У овом делу формулисани су циљеви истраживања који обухватају: морфометријску карактеризацију (која може користити код дефинисања стандарда за домаћег бивола), процену репродуктивне ефикасности и анализу генских варијанти повезаних са квалитетом млека. Такође, у уводу је наглашен значај карактеризације протеина млека и испитивања технолошких својстава млека у функцији примене у селекцији и могућег унапређења квалитета производње.

Преглед литературе. У оквиру овог поглавља представљени су досадашњи резултати истраживања, који су у вези са предметом дисертације и груписани су у осам потпоглавља. У првом потпоглављу – **Фенотипска карактеризација бивола**, наведени су кораци, које прописује FAO (Food and Agriculture Organization), из којих треба да се састоји студија о фенотипској карактеризацији одређене популације, као и подаци

неопходни за ту сврху. Друго потпоглавље – **Порекло и основне карактеристике домаћег бивола**. У овом потпоглављу описано је географско порекло и доместикација бивола, као и њихова подела на речне и мочварне. Обрађене су њихове морфолошке и генетичке разлике, као и распрострањавање кроз историју, од Азије ка Европи. Наглашена је адаптивност бивола на тешке услове, њихова улога у производњи млека, меса, коже и као радних животиња. Дат је преглед најзначајнијих раса речних бивола и подаци о савременом начину гајења у различитим земљама света. У трећем потпоглављу – **Биволи у Србији**, приказан је историјат присуства бивола на територији Србије, као и подаци о њиховом броју, пореклу и основним морфолошким карактеристикама. Наведен је најстарији писани траг о биволима из 1905. године, као и подаци из пописа 1890. године. Описан је изглед домаћих бивола у Србији који припадају раси медитерански биво. Истакнуте су специфичности у конформацији тела, боји длаке, као и утицају услова држања на изглед бивола. Дата је процена телесне масе и наведена подручја у Србији где се најчешће гаји. У четвртм потпоглављу – **Морфолошке особине бивола**, обрађен је значај морфометријских истраживања за процену телесне развијености и екстеријера бивола. Објашњена је улога телесних мера и релативних показатеља телесне развијености (индекса) у селекцијском раду, као и значај процене екстеријера. Приказане су основне телесне мере бивола у Србији и упоредни подаци из других земаља, за медитеранског бивола и за друге расе. Наведени су резултати бројних студија које указују на повезаност морфолошких особина са продуктивним и репродуктивним способностима бивола, као и на значај екстеријера у селекцијском раду. У петом потпоглављу – **Особине плодности**, приказани су кључни аспекти репродукције код бивола као основе за очување и унапређење популације. Кандидат је кроз поднаслов овог потпоглавља посветио посебну пажњу пубертету и полној зрелости, еструсу, узрасту при првој оплодњи, бременитости, узрасту при првом тељењу, сервис периоду, као и међутелидбеном интервалу. Детаљно су анализирани сервис период и међутелидбени интервал, као параметри који директно утичу на репродуктивну ефикасност. Наведени су бројни литературни подаци из различитих земаља, који показују велику варијабилност ових параметара, условљену начином држања, исхраном, сезоном и генетичким факторима. Истакнут је значај оптимизације услова гајења ради скраћивања анеструсног периода и побољшања параметара плодности. У шестом потпоглављу – **Генетичка карактеризација**, описан је значај примене молекуларне генетике у анализи анималних генетичких ресурса. Наведени су циљеви које поставља FAO у процесу молекуларне карактеризације, као и типови генских варијанти које се најчешће анализирају. Истакнут је значај замене једног нуклеотида у молекулу ДНК (SNP), као генетичких варијанти које се најчешће изучавају, као и улога метода PCR-а и секвенцирања у савременим истраживањима. Указано је на примену ових метода у идентификацији варијанти гена кандидата повезаних са продуктивним особинама, као и на значај геномских информација у селекцији и очувању аутохтоних популација. Седмо потпоглавље – **Варијабилност протеина млека и гени кандидати**. У овом потпоглављу су приказани резултати досадашњих истраживања у вези са генетичком варијабилношћу гена који кодирају протеине млека и генима кандидатима за особине и принос млека код бивола, са посебним освртом на гене казеина (*CSN1S1* и *CSN3*), као и на *SCD* и *DGAT1* гене. Истакнута је повезаност појединих SNP варијанти са приносом млека, садржајем протеина и масти, својствима коагулације, као и могућностима примене ових маркера у селекцијским програмима. Такође, приказани су и резултати који указују на могућност примене генетичких анализа у спречавању фалсификовања производа са заштићеним географским пореклом. **Квалитет млека биволица**. У осмом потпоглављу кандидат указује на хемијски састав и технолошки значај млека биволица, које се одликује већим садржајем масти, протеина, суве материје и минерала у односу

на кравље млеко, што га чини погодним за производњу традиционалних производа. Истичу се варијације у саставу у зависности од расе, исхране и подручја. Анализирани су појединачни састојци млека, са нагласком на њихов нутритивни и технолошки значај. Посебно је обрађен утицај термичког третмана на квалитет млека и коагулацију. Описани су кључни фактори коагулације и савремене методе праћења овог процеса, као и процене лабораторијског приноса сира, као индикатора технолошке вредности млека.

Материјал и метод рада. Ово поглавље је груписано у четири потпоглавља. У уводном делу кандидат наводи да су предмет истраживања ове дисертације била грла домаћег бивола (*Bubalus bubalis*), која се гаје на подручју Пештера, односно у општинама Нови Пазар и Тутин и да је рад са животињама подразумевао поштовање свих правила добробити животиња. Прво потпоглавље – **Морфометријске особине бивола**. Представљени су подаци о популацији домаћег бивола, која је била предмет овог истраживања, као и методологија утврђивања телесних мера. Истраживање је обухватило 130 грла са подручја Пештера, од којих је 125 било женског пола. Животиње су биле подељене у три групе на основу старости. Наводи се да су морфометријска мерења извршена коришћењем Литиновог штапа и пантљике, а да је измерено 11 телесних мера. Поред основних димензија тела, израчунато је 11 индекса телесне развијености. Друго подпоглавље – **Особине плодности**. У овом делу рада анализирани су три репродуктивне особине код биволица: узраст при првом тељењу, трајање сервис периода и трајање међутелидбеног интервала. Утврђен је узраст при првом тељењу код 46 јединки. Анализирано је 69 сервис периода и 71 међутелидбени интервал код 53 јединке. Ради утврђивања фактора који утичу на ове особине, подаци су груписани према сезони рођења или тељења, као и према редоследу тељења. Анализиран је: утицај сезоне рођења на узраст при првом тељењу, утицај сезоне тељења на трајање сервис периода и међутелидбеног интервала, као и утицај редоследа тељења на трајање сервис периода и међутелидбеног интервала. Треће подпоглавље – **Молекуларно генетичка анализа испитиваних јединки**. Кандидат наводи да је метода избора за екстракцију ДНК из крви бивола била фенол хлороформска метода са протеиназом К, због давања већег приноса и квалитета ДНК у односу на комерцијалне комплете за екстракцију ДНК из крви и ткива. Квалитет и концентрација ДНК проверени су спектрофотометријом, а добијени узорци успешно су искоришћени у даљој анализи. Испитиване су варијанте у четири гена повезана са саставом млека: *CSN1S1*, *CSN3*, *SCD* и *DGAT1*. Детекција генских варијанти и одређивање генотипова је спроведено применом метода PCR, RFLP и Сангеровим секвенцирањем. За сваки ген припремљени су одговарајући амплимери, дефинисани PCR услови и специфични рестрикциони ензими, уколико су примењени. Прецизно су описани сви протоколи, услови реакција и очекиване дужине фрагмената ДНК након дигестије. Након експерименталног утврђивања генотипова, статистички је анализирана њихова повезаност са квалитетом млека. Четврто подпоглавље – **Квалитет млека биволица**. У овом делу кандидат наводи да је спроведена анализа хемијског састава млека биволица. Узорци млека прикупљени су од 42 јединке, које су биле у истој фази лактације. Млеко је од сваке животиња узорковано по три пута. Анализирани су следећи параметри: сува материја млека, укупни протеини, казеин, млечна маст и киселост (титрациона и активна). Сува материја утврђена је сушењем узорака на $102 \pm 1^\circ\text{C}$ до константне масе. Садржај протеина и казеина утврђен је Кјелдал методом, при чему је казеин израчунат као разлика укупних протеина и неказеинског азота. Маст је мерена Гербер методом, при чему је коригован обрачун због високог садржаја масти у млеку биволица. Киселост млека одређена је Soxhlet-Henkel методом и мерењем pH вредности. За даљу анализу формиране су три групе узорака на основу генотипа *CSN1S1* 472G>C. Свака група обухватала је обједињено млеко животиња са истим генотипом (GG, GC или CC). Други критеријум за формирање група био је

проценат протеина у млеку, како би се обезбедило да садржај протеина у обједињеним узорцима међу групама буде што приближнији. Ово је учињено како би се елиминисао утицај различитог садржаја протеина на реолошке параметре. Све групе (збирни узорци по генотипу) имале су идентичан садржај протеина од 4,9 %. Свака група подељена је на сирово (GG1, GC1, CC1) и термички третирано (GG2, GC2, CC2) млеко (95°C/10 min). Протеинске фракције анализирани су SDS-PAG електорофорезом у редукујућим и нередукујућим условима. Реолошка мерења сиришне коагулације млека и својстава формираног гела спроведена су методом осцилаторне реометрије са малом амплитудом. Мерени су параметри сиришне коагулације: време почетка коагулације (енг. RCT – rennet coagulation time), време завршетка коагулације (енг. ST – setting time), чврстина гела (енг. GF – gel firmness), модул еластичности (G') и брзина агрегације (енг. AR – aggregation rate). Под последњим поднасловом описана је метода процене лабораторијског приноса сира. Наводи се да су статистичком обрадом података утврђени параметри дескриптивне статистике за испитиване морфометријске особине, особине плодности и квалитета млека биволица. Утицај различитих фактора (старост, сезона, редослед тељења, генотип) испитиван је анализом варијансе (F – тест), а значајност разлика између група утврђена је помоћу LSD теста. Генетички подаци обрађени су χ^2 тестом (фреквенције генотипова, алела, HW равнотежа) и Spearman корелацијом. За поређење група коришћени су t – тест и Mann–Whitney U тест, у зависности од нормалности расподеле. Методом мултипле логистичке регресије утврђена је снага асоцијације генотипова са испитиваним фенотипским карактеристикама и представљена је као β -коефицијент, а наведен је и примењени линеарни модел. Хаплотипска анализа и процена LD параметара (D' , r^2) спроведена је у програму Thesias 3.1. Статистичка значајност утврђена је на нивоу $p < 0,05$.

Резултати и дискусија. Резултати рада, заједно с дискусијом су представљени у више целина у складу са описаним материјалом и методом рада. У уводном делу овог поглавља кандидат пружа општи приказ популације домаћег бивола у Србији, која се гаји на подручју Пештера. Описује се традиционалан начин гајења, исхране и муже, као и специфичности у понашању. Истакнут је значај домаћег бивола у производњи млечних производа високог квалитета и више тржишне вредности. Наведене су основне карактеристике: бројно стање, животни век, телена маса, порођајна маса, као и начин репродукције. У првом потпоглављу – *Морфометријске особине домаћег бивола* приказани су резултати који се односе на фенотипску варијабилност морфометријских особина домаћег бивола у Србији. Приказане су телесне мере 125 женки и 5 мужјака домаћег бивола са подручја Пештера. Резултати морфометријских параметара указују на специфичности ове популације у поређењу са медитеранском расом у другим земљама, као и другим расама бивола. За испитиване морфометријске особине домаћих бивола (биволица) утврђене су следеће вредности телесних мера: висина ребена 122,55 cm (106 – 136), висина крста 124,09 cm (109 – 137), дужина трупа 132,72 cm (116 – 157), ширина груди 39,25 cm (28 – 51), дубина груди 64,28 cm (49 – 87), предња ширина карлице 49,22 cm (36 – 63), ширина кукова (растојање зглобова кука) 43,94 cm (33 – 56), дужина карлице 42,14 cm (33 – 54), ширина (растојање) седњачних кврга 20,47 cm (16 – 27), обим груди 185,23 cm (154 – 214), обим цеванице 20,2 cm (17 – 25). Утврђени резултати за телесне димензије за домаћег бивола гајеног у Србији (Пештер), у већини случајева, имале су ниже вредности у односу на популације бивола које се гаје у земљама са применом селекције, попут Италије, Бразила, Румуније и Индије. Утврђено је да је утицај старости грла био статистички врло високо значајан ($p < 0,001$) за висину ребена, дужину трупа, предњу ширину карлице, ширину (растојање) седњачних кврга и обим груди, док је за дубину груди и ширину кукова (растојање зглобова кука) имао статистички високо значајан утицај ($p < 0,01$). Утицај старости није био статистички

значајан ($p > 0,05$) за висину крста, ширину груди, дужину карлице и обим цевнице. Наведено је да се разлике у вредностима појединих особина између популација могу приписати генотипу, условима гајења и различитим селекцијским циљевима. Животиње које су обухваћене овим истраживањем гаје се на екстензиван начин, јер су од пролећа до јесени на пашњацима, а недостаје и примена селекције. Кандидат наводи да описане особине (телесне мере) могу послужити за дефинисање стандарда за домаћег бивола у Србији. Истраживањем су обухваћени и релативни показатељи телесне развијености, односно телесни индекси, који представљају пропорционалне односе између различитих телесних мера и имају значајну улогу у процени конституције, функционалности и прилагођености животиња одређеном смеру производње. Вредности израчунатих релативних показатеља телесне развијености биле су: индекс формата (оквир) 108,32 % (94,62 – 124,17), индекс дубине груди 52,47 % (40,16 – 73,11), индекс збијености трупа 140,21 % (108,22 – 168,07), индекс масивности 151,20 % (125,4 – 168,03), индекс преграђености 101,30 % (96,03 – 107,76), карлично-грудни индекс (кукови) 89,60 % (62,22 – 115,38), карлично-грудни индекс (бедрене кврге) 80,11 % (53,85 – 105,13), индекс облика карлице (1) 41,78 % (32,20 – 55,81), индекс облика карлице (2) 46,77 % (35,71 – 63,41), индекс дужине ногу 47,53 % (26,89 – 59,84), индекс кошчатости 16,50 % (14,17 – 19,84). Утврђено је да је старост имала статистички врло високо значајан утицај ($p < 0,001$) на индекс преграђености, док је на карлично-грудни индекс (бедрене кврге) имала статистички високо значајан утицај ($p < 0,01$). Утицај старости није био статистички значајан ($p > 0,05$) за индекс формата (оквир), индекс дубине груди, индекс збијености трупа, индекс масивности, карлично-грудни индекс (кукови), индекс облика карлице (1), индекс облика карлице (2), индекс дужине ногу и индекс кошчатости. Утврђене вредности телесних мера могу бити коришћене као референтни параметри за стандардизацију популације домаћег бивола у Србији и послужити за идентификацију типичних представника, као и за дефинисање минималних и максималних граничних вредности. Такође, могу дати допринос бољем праћењу генетичког напретка у оквиру одгајивачких програма. На тај начин, могу бити од користи за побољшање економских параметара производње, јер су телесне мере често у корелацији са продуктивним особинама, као што је млечност. Индекси представљају корисне алате за селекцију и процену потенцијала производње код животиња. На основу већег броја телесних индекса могу се добити важне информације о конституцији животиње и прилагођености одређеном смеру производње. Одређене пропорције тела израчунате кроз индексе могу указати на евентуалне застоје у развоју или на степен функционалности и прилагођености телесне грађе одређеном смеру производње. Ови параметри омогућавају поређење између различитих популација и раса, што је од изузетног значаја за разумевање генетичке и фенотипске варијабилности. У другом подпоглављу – **Особине плодности домаћег бивола**, анализирани су репродуктивне особине популације домаћих биволица са подручја Пештера. Анализирани репродуктивне особине бивола (биволица) имале су следеће вредности: узраст при првом тељењу 36 месеци (32 – 41), трајање сервис периода 97,71 дан (54 – 147), трајање бременитости 319,28 дана (314 – 321), трајање међутелидбеног интервала 416,35 дана (375 – 468). Утицај сезоне рођења плоткиње на узраст при првом тељењу није показао статистичку значајност ($p > 0,05$). Утицај сезоне тељења и тељења по реду на трајање сервис периода и трајање међутелидбеног интервала није био статистички значајан ($p > 0,05$). Утврђене вредности су упоређене са литературним подацима, чиме је омогућена објективна процена плодности и репродуктивног потенцијала ове популације. Резултати добијени у овом истраживању указују да је репродуктивна ефикасност домаћих биволица на задовољавајућем нивоу, али постоји простор за побољшање кроз унапређење услова држања, исхране и праћења репродуктивних параметара. Уједно, ови резултати могу

послужити као референтни оквир за планирање одгајивачких програма, посебно у циљу очувања и унапређења популације домаћег бивола. У трећем потпоглављу – **Молекуларно генетичка анализа испитиваних јединки**, спроведена је молекуларно генетичка анализа популације домаћих бивола са подручја Пештера, у циљу идентификације присуства и ефеката варијанти гена *CSN1S1*, *CSN3*, *SCD* и *DGAT1*, а које су претходно повезиване са квалитетом млека. Молекуларно генетичком анализом (рестрикцијом дигестијом или Сангеровим секвенцирањем) испитиваних јединки детектоване су алелне варијанте гена *CSN1S1* 472G>C (GG, GC, CC), *CSN3* 467C>T (CC, CT, TT), *DGAT1* 9046T>C (TT, TC, CC) и *SCD* 133A (AA). Учесталост генотипова за *CSN1S1* 472G>C показала је да је најзаступљенији GG генотип (57,81 %) и да је ређи C алел присутан у популацији са учесталošћу од 0,23. У случају *CSN3* 467C>T, најзаступљенији генотип био је CT (49,60 %), а ређи алел T био је присутан са учесталošћу од 0,41. Генска варијанта *SCD* 133A>C била је мономорфна за алел A, односно све јединке су имале AA генотип (100 %), док AC и CC генотипови нису детектовани. За *DGAT1* 9046T>C, најучесталији генотип био је TC (56,35 %), а ређи C алел је био присутан у популацији са учесталošћу од 0,49. Утицај генске варијанте *CSN1S1* 472G>C имао је статистички врло високо значајан утицај ($p<0,001$) на садржај протеина и казеина у млеку, а на садржај суве материје, садржај суве материје без масти и садржај масти није имао статистичког значаја ($p>0,05$). Генска варијанта *CSN3* 467C>T појединачно није показала статистички значајан утицај ($p>0,05$) на садржај компоненти млека, али је регресијом анализом утврђено да *CSN1S1* 472G>C ($\beta=0,62$, $p=0,000013$) и *CSN3* 467C>T ($\beta=0,32$, $p=0,012$) имају значајан ефекат на ниво казеина у млеку. Хаплотипска анализа генских варијанти *CSN1S1* 472G>C и *CSN3* 467C>T показала је да хаплотип 1C3C има статистички значајан утицај на садржај казеина и протеина у млеку. Генска варијанта *SCD* 133A>C била је мономорфна. Није детектован утицај генске варијанте *DGAT1* 9046T>C на садржај компоненти млека ($p>0,05$). Кандидат наводи да наведене анализе могу помоћи у откривању генских комбинација са највећим ефектом на квалитет млека. Такође, могу помоћи у селекцији животиња, ка унапређењу производње млека. Генске варијанте у различитим географским регионима могу се искористити за потврду аутентичности производа са заштићеним географским пореклом. Ови тестови често се заснивају управо на анализи гена главних млечних протеина. У четвртм потпоглављу – **Квалитет млека биволица**, анализиран је квалитет млека, а параметри квалитета млека биволица имали су следеће вредности: садржај суве материје 19,65 % (16,62 – 23,89), садржај суве материје без масти 10,58 % (8,89 – 12,18), садржај протеина 4,73 % (3,52 – 5,52), садржај казеина 3,58 % (3,03 – 4,31), садржај масти 9,05 % (7,33 – 11,67), киселост °SH 8,83 (6,47 – 10,27) и pH 6,66 (6,51 – 6,80). Корелациони однос између анализираних параметара квалитета млека биволица и садржаја казеина био је следећи: садржај суве материје 0,47, садржај суве материје без масти 0,61, садржај протеина 0,93, садржај масти 0,226, киселост °SH 0,316 и pH -0,038. Значајну позитивну корелацију са садржајем казеина у млеку биволица имали су садржај суве материје без масти и садржај протеина ($p<0,001$), садржај суве материје ($p<0,01$) и вредност °SH ($p<0,05$), док корелације садржаја млечне масти и вредности pH са казеином нису биле статистички значајне ($p>0,05$). Денситометријском анализом у редукујућим условима SDS-PAGE електрофорезом установљено је да узорци сировог млека сва три генотипа *CSN1S1* 472G>C (GG, GC, CC) имају сличан удео укупног казеина око 72 – 75 % и фракције протеина сурутке (β -Lg + α -La) око 23 – 24 %.

У овом потпоглављу представљени су и резултати истраживања реолошких параметара сиришне коагулације млека биволица различитих генотипова (*CSN1S1* 472G>C), као и утврђен лабораторијски принос сира од сировог и термички третираног млека. Просечне вредности реолошких својстава сиришне коагулације сировог млека

биле су: време почетка коагулације (енг. RCT – rennet coagulation time) 17,43 min (13,17 – 22,61), време завршетка коагулације (енг. ST – setting time) 31,22 min (26,48 – 38,35), модул еластичности (G') 170,67 Pa (139,35 – 212,65), чврстина гела (енг. GF – gel firmness) 192,47 Pa (158,85 – 235,92), брзина агрегације (енг. AR – aggregation rate) 0,1113 Pa/s (0,0937 – 0,1275). Вредности за наведена својства термички третираног млека биволица у просеку су биле: RCT 13,60 min (11,95 – 16,00), ST 36,72 min (31,22 – 41,85), G' 129,67 Pa (92,99 – 178,70), GF 148,70 Pa (110,90 – 200,10), AR 0,0584 Pa/s (0,0405 – 0,0840). Утврђено је да је утицај генотипова *CSN1S1* 472G>C (GG, GC и CC) имао статистички врло високо значајан утицај ($p < 0,001$) на реолошка својства при сиришној коагулацији сировог и термички третираног млека домаћих биволица.

Лабораторијски принос сира од сировог млека биволица био је 32,71 % (24,25 – 47,17), а термички третираног млека 59,50 % (45,58 – 74,07). Највећи лабораторијски принос сира добијен је код генотипа CC како у свежем тако и у термички обрађеном млеку. Кандидат наводи да је разлог високих вредности лабораторијског приноса сира у овом раду вероватно тај што је коришћени притисак био недовољан да се сурутка извуче из чврстог гела добијеног од млека биволица. Утврђено је да је утицај генотипова *CSN1S1* 472G>C (GG, GC и CC) имао статистички врло високо значајан утицај ($p < 0,001$) на лабораторијски принос сира сировог и термички третираног млека биволица.

Резултати указују да би високо термички третирано млеко биволица, анализираних генотипова, могло бити погодно за производњу сира, под условом да се рН млека подеси на 6,3, при чему би најпогоднији био CC генотип.

Закључак. На основу резултата ове докторске дисертације, која је имала за циљ фенотипску и генетичку карактеризацију домаћег бивола гајеног у Србији, кандидат је навео најважније закључке. Наведене су просечне, минималне и максималне вредности за 11 телесних мера биволица, као и за 11 релативних показатеља телесне развијености (индекса). Такође, представљен је и утицај старости на телесне мере и индексе телесне развијености.

Наведене су анализиране репродуктивне особине бивола (биволица) и њихове просечне, минималне и максималне вредности, као и утицај сезоне рођења плоткиње на узраст при првом тељењу, утицај сезоне тељења и тељења по реду на трајање сервис периода и трајање међутелидбеног интервала.

Затим су наведени анализирани параметри квалитета млека биволица и њихове просечне, минималне и максималне вредности. Описан је корелациони однос између анализираних параметара квалитета млека биволица и садржаја казеина.

Наведени су резултати молекуларно генетичке анализе испитиваних јединки, где су детектоване алелне варијанте гена које су претходно повезиване са квалитетом млека, као и учесталост генотипова. Описан је утицај генских варијанти на квалитет млека, резултати вишеструке регресионе анализе и хаплотипске анализе.

Представљене су просечне вредности реолошких својстава сиришне коагулације сировог и термички третираног млека, као и њихове минималне и максималне вредности. Наведен је и утврђени утицај генотипова на реолошка својства при сиришној коагулацији сировог и термички третираног млека домаћих биволица.

Наведене су просечна, минимална и максимална вредност лабораторијског приноса сира од сировог и термички третираног млека, као и утврђен утицај генотипа на лабораторијски принос. Кандидат наводи разлог високих вредности лабораторијског приноса сира у овом раду, објашњавајући да је вероватно зато што је коришћени притисак био недовољан да се сурутка извуче из чврстог гела добијеног од млека биволица.

Наводи се да резултати ове докторске дисертације представљају нове информације о морфометријским, репродуктивним и генетичким карактеристикама

домаћих биволица гајених у Србији, као и информације о квалитету млека. Утврђени резултати за испитиване особине (телесне мере) могу послужити у дефинисању стандарда за домаћег бивола у Србији. Разлике у генетичкој варијабилности и реолошким својствима млека, могу послужити у поступку селекције грла у популацији бивола гајених у Републици Србији са циљем форсирања пожељних производних особина, уз истовремено очување генетичке разноликости ове популације.

Литература. У дисертацији на правилан начин цитирано је 207 литературних извора, који су у вези са представљеним истраживањем.

Прилози. У овом поглављу налази се укупно 67 прилога са додатним подацима о утврђеним резултатима у овој дисертацији.

5. ОСТВАРЕНИ РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација представља прво обимније истраживање фенотипских и генетичких својстава домаћег бивола у Србији, са посебним освртом на популацију са подручја Пештера. Истраживањем су обухваћени параметри телесне развијености, репродуктивних особина и квалитета млека, као и анализа варијанти гена од значаја за квалитет млека. Резултати фенотипске и генетичке карактеризације домаћег бивола у Србији омогућавају поређење са другим популацијама и расама бивола, што је од посебног значаја за разумевање њихове варијабилности. Такође, могу се користити као референтни параметри за стандардизацију домаћег бивола у Србији, као и за праћење генетичког напретка и примене селекције у одгајивачким програмима. Индекси телесне развијености представљају важан алат у процени производног потенцијала, физиолошке прилагођености и правилног развоја грла.

Рад има практичну примену за одгајивачке програме, селекцију, прераду млека и очување производа са заштићеним географским пореклом. Установљене вредности потврђују висок технолошки и нутритивни потенцијал млека домаћих биволица, што отвара могућности за унапређење производње кроз селекцију пожељних генотипова за квалитет млека.

Представљени резултати доприносе карактеризацији генетичке структуре популације бивола у Србији, што до сада није рађено, и дају потенцијално користан допринос ка унапређењу производње млека и очувању ове популације. Утврђени резултати пружају значајан допринос научној бази података о домаћем бивола и отварају могућности за даља истраживања у циљу очувања генетичког идентитета и повећања економске вредности производње млека.

6. ОБЈАВЉЕНИ И САОПШТЕНИ РЕЗУЛТАТИ

1. **Stepić, S.**, Miočinović, J., Radovanović, M., Hovjecki, M., Životić, I., Kuveljić, J., Perišić, P. (2024): Influence of $\alpha s1$ -casein genetic variant in buffalo milk and rennet coagulation properties. *Mljekarstvo*. Vol. 74 No. 3. DOI: <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2024.0305>
2. **Stepic, S.**, Kuveljic, J., Zivotic, I., Perisic, P., Bogdanovic, V., Ignjatovic, A., Zivkovic, M. (2024): *CSN1S1* and *CSN3* genetic variants affect milk quality traits in the buffalo population in Serbia. *JAST (Journal of Animal Science and Technology)*. pISSN: 2672-0191, eISSN: 2055-0391. DOI: <https://doi.org/10.5187/jast.2024.e78>

7. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

На основу анализе докторске дисертације под насловом: „**Фенотипска и генетичка карактеризација домаћег бивола у Србији**“, кандидата Стефана Н. Степића, специјалисте инжењера пољопривреде, Комисија сматра да је дисертација урађена према одобреној Пријави теме и да представља оригинално и самостално научно дело у области одгајивања и репродукције домаћих животиња.

Докторанд је на адекватан начин проучио резултате истраживања других аутора, дефинисао предмет и програм својих истраживања, поставио циљ и основне хипотезе, применио адекватне статистичке методе за анализу података, дискутовао добијене резултате и донео правилне закључке.

На основу свега изнетог, **Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију** специјалисте инжењера пољопривреде Стефана Н. Степића, под насловом: „**Фенотипска и генетичка карактеризација домаћег бивола у Србији**“ и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да усвоји Извештај о позитивној оцени и омогући кандидату јавну одбрану докторске дисертације.

Београд – Земун

Датум: 27.03.2025. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

др Предраг Перишић, ванредни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
УНО: Одгајивање и репродукција домаћих и гајених животиња

др Маја Живковић, научни саветник
Универзитет у Београду – Институт за нуклеарне науке “Винча”,
Институт од националног значаја за Републику Србију
УНД: Молекуларна генетика

др Јелена Миоциновић, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
УНО: Технологија анималних производа

др Весна Давидовић, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
УНО: Исхрана, физиологија и анатомија домаћих и гајених животиња

др Милун Петровић, редовни професор
Универзитет у Крагујевцу – Агрономски факултет Чачак
УНО: Сточарство

**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: „**Фенотипска и генетичка карактеризација домаћег бивола у Србији**“, кандидата Стефана Н. Степића, специјалисте инжењера пољопривреде, констатујемо да утврђено подударање текста износи 10 %. Утврђени степен подударности последица је цитата, библиографских података о коришћеној литератури, цитираних метода и протокола који су примењени у истраживању, као и претходно публикованих резултата истраживања из ове докторске дисертације у радовима са SCI листе, од којих је најмање један обавезан за оцену и одбрану докторске дисертације и који мора бити из истраживања обухваћених докторском дисертацијом, 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.

У Београду, 27.03.2025. године

Ментор

др Предраг Перишић, ванредни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
УНО: Одгајивање и репродукција домаћих и гајених животиња

Други ментор

др Маја Живковић, научни саветник,
Универзитет у Београду – Институт за нуклеарне науке “Винча”,
Институт од националног значаја за Републику Србију
УНД: Молекуларна генетика