



**Univerzitet Crne Gore
Biotehnički fakultet**

Mihaila Lalića 15, 81 000 Podgorica



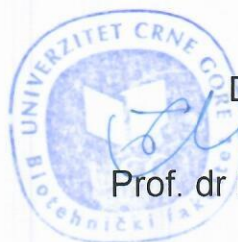
Broj:	07. 403/2
Podgorica:	03. 02. 2020

**UNIVERZITET CRNE GORE
- Centar za doktorske studije-**

PODGORICA

Poštovani,

U skladu sa članom 35 stav 3 Pravila doktorskih studija dostavljamo vam Mišljenje Vijeća Biotehničkog fakulteta sa Izvještajem komisije za ocjenu podobnosti doktorske teze i kandidata mr Ane Velimirović.



DEKAN

[Signature]
Prof. dr Božidarka Marković

UNIVERZITET CRNE GORE
Biotehnički fakultet
Broj: 07-403
Podgorica, 03.02.2020

Na osnovu čl. 64 stav 2 tačka 9 Statuta Univerziteta Crne Gore i člana 35 stav 3 Pravila doktorskih studija Univerziteta Crne Gore, Vijeće Biotehničkog fakulteta je na elektronskoj sjednici od 03.02.2020. godine dalo

MIŠLJENJE

I

Prihvata se Izvještaj Komisije za ocjenu podobnosti doktorske teze i kandidata **mr Ane Velimirović.**

II

Sastavni dio ovog Mišljenja čini Izvještaj Komisije za ocjenu podobnosti doktorske teze i kandidata mr Ane Velimirović.



DEKAN

[Handwritten signature]
Prof. dr Božidarka Marković

Dostaviti:

- Centru za doktorske studije
- Uz Zapisnik sa elektronske sjednice sjednice Vijeća
- a/a

OCJENA PODOBNOSTI DOKTORSKE TEZE I KANDIDATA

OPŠTI PODACI O DOKTORANDU	
Titula, ime i prezime	Mr Ana Velimirović
Fakultet	Biotehnički fakultet
Studijski program	Biotehnika
Broj indeksa	1/18
Podaci o magistarskom radu	"Ekspresija i purifikacija protein omotača u grčkim izolatima <i>Citrus tristeza</i> virus, detekcija i kvantifikaija antitijela upotrebom ELISA, Western blota i Dot blota"; Mediteranski agrnomski institut u Hanji (MAICH), Odsjek održive poljoprivrede, Hanja, Grčka; Cum maxima laude A (87,5/100)
NASLOV PREDLOŽENE TEME	
Na službenom jeziku	"Karakterizacija crnogorskih autohtonih populacija tetraploidne pšenice (<i>T. durum</i> i <i>T. turgidum</i>) molekularnim i morfološkim markerima"
Na engleskom jeziku	"Characterization of Montenegrin indigenous populations of tetraploid wheat (<i>T. durum</i> i <i>T. turgidum</i>) using molecular and morphological markers"
Datum prihvatanja teme i kandidata na sjednici Vijeća organizacione jedinice	9. decembar 2019. godine (11. sjednica Vijeća Fakulteta)
Naučna oblast doktorske disertacije	Ratarstvo - biljni genetički resursi
Za navedenu oblast matični su sljedeći fakulteti	
Biotehnički fakultet, Podgorica	
A. IZVJEŠTAJ SA JAVNE ODBRANE POLAZNIH ISTRAŽIVANJA DOKTORSKE DISERTACIJE	
Odbrana polaznih istraživanja doktoranda mr Ane Velimirović pod nazivom "Karakterizacija crnogorskih autohtonih populacija tetraploidne pšenice (<i>T. durum</i> i <i>T. turgidum</i>) molekularnim i morfološkim markerima" održana je na Biotehničkom fakultetu 15. januara 2020. godine pred komisijom za ocjenu podobnosti doktorske teze i kandidata u sastavu: 1. Prof. dr Nataša Mirecki, redovni profesor Biotehničkog fakulteta Univerziteta Crne Gore (naučna oblast: povrtarstvo – organska proizvodnja) – predsjednik komisije, 2. Prof. dr Zoran Jovović, redovni profesor Biotehničkog fakulteta Univerziteta Crne Gore (naučna oblast: ratarstvo – biljni genetički resursi) – mentor i 3. Akademik prof. dr Novo Pržulj, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banjoj Luci (naučna oblast: genetika i oplemenjivanje biljaka) – član.	

Prezentacija polaznih istraživanja doktoranda mr Ane Velimirović počela je u 10:00 časova (sala br. 3) i trajala je do 10:45 časova. Tokom izlaganja doktorand mr Ana Velimirović je detaljno obrazložila predloženu temu doktorske disertacije sa osvrtom na značaj pšenice, kao globalno najvažnije poljoprivredne kulture. Ukratko se osvrnula na dometifikaciju pšenice u njenim centrima porijekla, kao i na njen dolazak na ove prostore. Nakon toga izložila je naučni cilj i osnovne hipoteze doktorske disertacije, kao i naučne metode i plan koji će se koristiti u istraživanjima. Na samom kraju predstavila je naučni doprinos predloženih istraživanja. Prezentacija polaznih istraživanja doktoranda mr Ane Velimirović trajala je 20 minuta. Nakon toga, članovi komisije su postavili nekoliko pitanja koja su se odnosila na metodologiju istraživanja i na praktičnu primjenu dobijenih rezultata.

Imajući u vidu izlaganje i odgovore na postavljena pitanja komisija je bila jednoglasna da je doktorand mr Ana Velimirović veoma dobro predstavila istraživanja svoje doktorske teze i dala potpune i jasne odgovore na sva postavljena pitanja. Na osnovu toga komisija je odbranu polaznih istraživanja doktoranda mr Ane Velimirović ocijenila sa veoma uspjешnom.

Napomena: Akademik prof. dr Novo Pržulj je odbranu polaznih istraživanja i razgovor sa doktorandom obavio putem video linka.

B. OCJENA PODOBNOSTI TEME DOKTORSKE DISERTACIJE

B1. Obrazloženje teme

Pšenica (*Triticum sp.*) je jedna od najznačajnijih kultura u svijetu i pored kukuruza i pirinča, predstavlja jedan od tri najveća izvora hrane. To je najrasprostranjenija poljoprivredna kultura koja se u svijetu gaji na oko 220 miliona hektara, a po ukupnim prinosima (734 miliona tona) predstavlja drugu najznačajniju kulturu poslije kukuruza (OECD Data, 2018).

Modernizacija i sadnja malog broja visokoprinosnih sorti, dovela je do značajnog pada biodiverziteta kulturnog bilja, pa se procjenjuje da je u XX vijeku izgubljeno oko $\frac{3}{4}$ ukupnog poljoprivrednog diverziteta (Everson 2003). Biljni genetički resursi su temelj evolucije i prirodni resurs koji omogućava bolje prilagođavanje usjeva. Karakterizacija tradicionalnih sorti je preduslov za bolje iskorištavanje ovog resursa na održiv način (Ramanatha i sar. 2002).

Aktivnosti na prikupljanju i očuvanju genetičke varijabilnosti pšenice u Crnoj Gori započete su 50-tih godina prošlog vijeka i u tom periodu sakupljeno je 111 autohtonih populacija tetraploidnih vrsta pšenice (Jovović i sar. 2015). Nepostojanje jasnog programa konzervacije prouzrokovao je gubitak oko 30% sakupljenih aksešena. Od 2004. godine cjelokupan genofond tetraploidnih pšenica (88 lokalnih populacija) čuva se u Crnogorskoj banci biljnih gena. Karakterizacijom pšenice primjenom agronomskih, morfoloških i molekularnih markera izvršice se procijena germplazme, grupisanje sličnih genotipova, eliminacija duplikata, reintrodukcija najekspresnijih genotipova u proizvodnju i utvrditi genetska varijabilnost kolekcije što će biti od velike koristi za oplemenjivačke programe (Hoisington i sar. 2019).

B2. Cilj i hipoteze

Cilj ove disertacije je da se uradi detaljna morfološka karakterizacija i DNK evaluacija kolekcije tetraploidnih pšenica konzervirane u Crnogorskoj banci biljnih gena na Biotehničkom fakultetu i pronadu unikatni genotipovi. To će doprinijeti boljem poznavanju diverziteta tetraploidnih pšenica u Crnoj Gori. Pored toga, detaljna karakterizacije kolekcije, daće jasniju sliku o potencijalnoj vrijednosti ovog materijala i mogućnosti njegove primjene u nekim budućim programima unapređenja kulture pšenice. Takođe, cilj ovog istraživanja je i da se identifikuju duplikati što će kroz njihovo uklanjanje iz kolekcije voditi osjetnom smanjenju konzervacionih troškova.

Polazne hipoteze u ovim istraživanjima su:

H1 - Detaljnom morfološkom i molekularnom karakterizacijom autohtonog materijala utvrdiće se visok nivo diverziteta ispitivanih genotipova

H2 – Rezultati proučavanja će ukazati na postojanje identičnih genotipova (duplikata)

H3 – Očekuje se izdvajanje superiornih genotipova

B3. Metode i plan istraživanja

U prvoj godini istraživanja obaviće se regeneracija svih aksešena tetraploidne pšeneice radi dobijanja polaznog materijala za morfološku karakterizaciju. Tokom tog procesa (Poljska banka pšenice u Danilovgradu) od svakog aksešena će se uzeti po 20 klasova koji će u jesen iste godine biti posijani na selekcionom polju Poljoprivrednog instituta u Banjoj Luci. U toku procesa karakterizacije kompletiraće se pasoški podaci i uraditi fotodokumentacija za svaki proučavani uzorak.

Sjetva uzoraka radi morfološke karakterizacije izvršiće se po metodu "klas-red". Morfološka karakterizacija obaviće se upotrebom UPOV deskriptor (UPOV Code(s): TRITI_AES *Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol.). Pratiće se sljedeća svojstva: Vršni segment vretena klasa: maljavost konveksne površine; Donja pljeva: širina ramena; oblik ramena, dužina vrha, oblik vrha, obraslost unutrašnjim dlačicama; Donji roščić: oblik vrha; Zrno: boja, obojenost fenolom; Pripadnost sorte toplotnom stadijumu; Klas: pepeljasta navlaka; Klijanac: pepeljasta navlaka na vratu; Biljka: visina (stablo, klas i osje); Stabljika: ispunjenost poprečnog presjeka na pola rastojanja između osnove klasa i kolenca ispod; Klas: oblik profila, zbijenost, dužina bez osja; Osje ili zupci: prisustvo, dužina; Klas: boja; Koleoptil: prisustvo antocijana; Biljka: tip porasta; Zastavičar: antocijanska pigmentacija aurikula; Biljka: učestalost biljaka sa povijenim zastavičarom; Vrijeme pojave klasova (na 50% klasova vidljivi prvi klasići) i Zastavičar: pepeljasta navlaka na lisci. Primarna karakterizacija upotrebom deskriptora, tj. na osnovu fenotipskih osobina (koje imaju visok koeficijent heritabilnosti, stabilne su u različitim sredinama) je jeftiniji način evaluacije. Fenotipski markeri predstavljaju različite morfološke, fiziološke ili biohemijske osobine jednog organizma po kojima se može razlikovati od drugih organizama. Revidirani deskriptori pšenice (*Triticum* spp.) Sekretarijata međunarodnog biodiverziteta (Biodiversity International Secretariat) i Komisije za saradnju u oblasti životne sredine omogućavaju prikupljanje podataka kroz jednostavno kodiranje podataka o karakterizaciji i evaluaciji u međunarodnom formatu, čime se postiže brzo, pouzdano i efikasno pretraživanje i komunikacija sa međunarodnom mrežom biljnih genetičkih resursa. Deskriptori za pšenicu Međunarne unije za zaštitu novih sorti bilja UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants) sadrže 26 osobina od kojih su neke i grafički prikazane, čime se povećava preciznost, uniformnost i komparativnost rezultata. Na osnovu dobijenih rezultata utvrđuje se sličnost ili različitost organizama i utvrđuje sržna kolekcije (Core collection) koju čini manji broj uzoraka, međusobno različitih. Metodama statističkih analiza, najčešće klaster analizom, slični uzorci se povezuju u istu grupu, a razdvajaju različiti organizmi u posebne grupe. Rezultat analize je dendrogram, kojim se grafički prikazuje srodnost različitih organizama. Predstavnici grupa biće korišćeni za DNK evaluaciju.

Za analize mikrosatelita, genomska DNK će biti izolovana iz biljaka starih četiri sedmice pomoću cetil trim etil amonijum bromidom (CTAB), prema standardnim protokolima (Yu i sar, 2017). Kvalitet i količina izolovane DNK će biti procijenjeni i 50ng će se koristiti za polimeraznu lančanu reakciju sa polimorfim mikrosatelitima, prema Henkraru i sar. (2016). Amplifikovani proizvodi će biti izdvojeni u 6% (W/V) elektroforetskom poliakrilamidnom gelu (PAGE) i obojeni. Za analizu će se koristiti minimum 10 mikrosatelitskih markera. Biće analizirane tri biološke i tri tehničke replike za svaki aksešen. Morfološki i molekularni markeri su osnov za procjenu vezanosti gena, koji ako se nalaze na istom hromozomu nasljeđuju se zajedno (ko-segregiraju), odnosno odvojeno u slučaju velike udaljenosti (nalaze se na

drugom hromozomu). Učestalost kojom se analizirani marker zajedno nasljeđuje osnov su za konstrukciju genetičkih mapa relativnog položaja markera na hromozomima. Mikrosatelitski markeri SSR pripadaju markerima lančane reakcije polimeraze (PCR), visoko su informativni markeri, pogodni za procjenu genetičke varijacije među sortama pšenice. SSR markeri su segmenti DNK sačinjeni od nekoliko uzastopno ponovljenih motiva koji se sastoje od 1-10 baznih parova (Islam i sar. 2012). Zastupljeni su ravnomjerno u genomu svih eukariota i visoko su polimorfni, kodominantni, pa mogu detektovati heterozigote. Vrijednosti heterozigotnosti i sadržaja informacija o polimorfizmu (PIC) služe za kvantitativno mjerenje informativnosti markera.

Podaci će biti pregledani pomoću softvera za analizu genetičkih markera. Statistička obrada podataka biće izvršena u GenAlex program. Sve molekularne analize biće urađene u Nacionalnom istraživačkom centru, Institutu za bionauku i bioresurse, u Bariju, Italija.

B4. Naučni doprinos

Istraživački projekat ima jasne naučne implikacije da se precizno opiše postojeća kolekcija autohtonih populacija tetraploidnih tetraploidnih pšenica (*T. durum* i *T. turgidum*). Na taj način dobiće se precizna slika o stanju crnogorskog genofonda tetraploidne pšenice što će stvoriti pretpostavke za njihovu održivu upotrebu. Identifikacijom novih izvora genetičke varijabilnosti stvoriće se uslovi za njihovo uključivanje u pred oplemenjivačke programe kao najefikasnijeg alata za povezivanje genetičkih resursa i savremenog oplemenjivanja. Pored upotrebe u pred oplemenjivačkim programima najekspresniji genotipovi (nosioci nekih pozitivnih naslednih svojstava) biće reintrodukovani u proizvodnu praksu iz koje su potpuno isčezli prije više od 40 godina. Njihov povratak na poljoprivredne površine biće obavljen preko proizvođača koji se bave proizvodnjom organskih žita i koji sve više iskazuju interesovanje za gajenje ovih davno napuštenih vrsta pšenice i koji se često suočavaju sa problemom nabavke njihovog sjemena. Povećana potražnja za proizvodima dobijenim preradom ovih vrsta pšenice takođe nameće potrebu njihovog detaljnog proučavanja.

B5. Finansijska i organizaciona izvodljivost istraživanja

Predložena istraživanja biće u potpunosti finansirana stipendijom koju je doktorand mr Ana Velimirović dobila od Ministarstva nauke Crne Gore.

Literatura

1. <https://data.oecd.org/agroutput/crop-production.htm>
2. Evenson R. E., Gollin D., (2003) Assessing the Impact of the Green Revolution, 1960 to 2000, Science
3. León, J. & Escoppinichi, R. & Zavala-Fonseca, R. & Castellanos, T. & Röder, Marion & Mujeeb-Kazi, Abdul. (2010). Phenotypic and Genotypic Characterization of Salt-Tolerant Wheat Genotypes. Cereal Research Communications - CEREAL RES COMMUN. 38. 15-22. 10.1556/CRC.38.2010.1.2.
4. Ranieri Roberto (2015) Geography of the durum wheat crop, Pastaria International
5. David Hoisington, Mireille Khairallah, Timothy Reeves, Jean-Marcel Ribaut, Bent Skovmand, Suketoshi Taba, Marilyn Warburton (2019) Plant genetic resources: What can they contribute toward increased crop productivity?, Proceedings of the National Academy of Sciences
6. Ramanatha Rao, V. & Hodgkin, T. (2002) Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources, Plant Cell, Tissue and Organ Culture
7. Jovovic, Zoran & Jordanovska, Suzana. (2015). Global Strategies for Sustainable Use of Agricultural Genetic and Indigenous Traditional Knowledge.

8. Gepts, P. (2006) Plant Genetic Resources Conservation and Utilization. Crop Sci.
9. Statistički Godišnjak (2018) Monstat
10. Yu, J., Dossa, K., Wang, L., Zhang, Y., Wei, X., Liao, B., et al. (2017). PMDBase: a database for studying microsatellite DNA and marker development in plants. Nucleic Acids Res
11. Henknar, Fatima et al. (2016) Genetic diversity reduction in improved durum wheat cultivars of Morocco as revealed by microsatellite markers. Sci. agric. (Piracicaba, Braz.)
12. Bänziger, M. & Cooper, M. (2001) Breeding for low input conditions and consequences for participatory plant breeding examples from tropical maize and wheat. Euphytica
13. Cîmpeanu, C., & Bucur, D. (2011). Cereals and Aegilops genus biodiversity survey in the west Balkans: Erosion and preservation. Conference Proceedings
14. Jovovic, Zoran. (2014). State of plant genetic resources in Montenegro - post SeedNet phase. CropSustaln workshop, At Ljubljana, Slovenia
15. Dudnik, N.S., I. Thormann, and T. Hodgkin. (2001). The Extent of Use of Plant Genetic Resources in Research—A Literature Survey. Crop Sci.
16. Andreas Kontoleon, Unai Pascual, Melinda Smale (2008) Agrobiodiversity Conservation and Economic Development. Taylor & Francis Group
17. Sadik N. (1991). Food, Nutrition and Agriculture - 1 - Food for the Future - Population growth and the food crisis, FAO
18. Ebert A. (2015). The role of germplasm for adaptation to climate change, 34th International Vegetable Training Course Module 1: Vegetables: From Seed to Table and Beyond, Nakhon Pathom, Thailand
19. IPCC (2014). IPCC Fifth Assessment Report: Climate Change 2014. Geneva, Switzerland, Intergovernmental Panel on Climate Change
20. Longin, C. F. H., & Reif, J. C. (2014). Redesigning the exploitation of wheat genetic resources. Trends in Plant Science
21. Zeven AC . (1998). Landraces: a review of definitions and classifications. Euphytica
22. Flannery K. (1973) The Origins Of Agriculture, Annu. Rev. Anthropology
23. Christopher R. G., Brenna M. H., Joanna L. M. (2011). Rapid, global demographic expansions after the origins of agriculture, Proceedings of the National Academy of Sciences
24. Charmet G. (2011). Wheat domestication: Lessons for the future. Comptes Rendus Biologie
25. Gadea M. (1958). Trigos cultivados en España y nuevas variedades recomendadas. Madrid, Spain: Ministerio de Agricultura
26. Korzun V Roder MS Ganai MW Worland AJ Law CN. (1998). Genetic analysis of the dwarfing gene Rht8 in wheat. Part I. Molecular mapping of the Rht8 on the short arm of chromosome 2D of bread wheat (*Triticum aestivum* L.), Theoretical and Applied Genetics
27. Valdez VA Byrne PF Lapitan NLV Peairs FB Bernardo A Bai G Haley SD. (2012). Inheritance and genetic mapping of Russian wheat aphid resistance in Iranian wheat landrace accession
28. Kyzeridis N Biesantz A Limberg P. (1995). Comparative trials with durum-wheat landraces and cultivars in different ecological environments in the Mediterranean region. Journal of Agronomy and Crop Science
29. Kumar GR Sakthivel K Sundaram RM Neeraja CN Balachandran SM Rani NS Viraktamath BC Madhav MS. (2010). Allele mining in crops: prospects and potentials. Biotechnology Advances
30. Bhullar NK Street K Mackay M Yahiaoui N Keller B. (2009). Unlocking wheat genetic resources for the molecular identification of previously undescribed functional alleles at the Pm3 resistance locus. Proceedings of the National Academy of Sciences

31. Feldman, Moshe & Bonjean, Alain & Angus, W. (2001). The Origin of cultivated wheat. The Origin of Cultivated Wheat. In the Wheat Book. 1-56.
32. UPOV Code(s): TRITI_AES Triticum aestivum L. emend. Fiori et Paol.
33. Islam, Saiful & Haque, Md. (2012). Molecular characterization of wheat (Triticum aestivum L.) genotypes through SSR markers. Bangladesh Journal of Agricultural Research

Mišljenje i prijedlog komisije

Imajući u vidu predloženi program istraživanja, naučni cilj i osnovne hipoteze, metode istraživanja i očekivani naučni doprinos doktorske disertacije "Karakterizacija crnogorskih autohtonih populacija tetraploidne pšenice (*T. durum* i *T. turgidum*) molekularnim i morfološkim markerima" Komisija jednoglasno konstatuje da je mr Ana Velimirović uspješno odbranila polazna istraživanja predložene doktorske disertacije.

Prijedlog izmjene naslova

Nema

Prijedlog promjene mentora i/ili imenovanje drugog mentora

Nema

Planirana odbrana doktorske disertacije

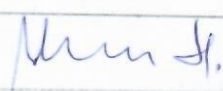
2021.

Izdvojeno mišljenje

Nema

Napomena

Nema

ZAKLJUČAK	
Predložena tema po svom sadržaju odgovara nivou doktorskih studija.	DA
Tema je originalan naučno-istraživački rad koji odgovara međunarodnim kriterijumima kvaliteta disertacije.	DA
Kandidat može na osnovu sopstvenog akademskog kvaliteta i stečenog znanja da uz adekvatno mentorsko vođenje realizuje postavljeni cilj i dokaže hipoteze.	DA
Komisija za ocjenu podobnosti teme i kandidata	
Prof. dr Nataša Mirecki, redovni profesor Biotehničkog fakulteta Univerziteta Crne Gore – predsjednik komisije	
Prof. dr Zoran Jovović, redovni profesor Biotehničkog fakulteta Univerziteta Crne Gore - mentor	
Akademik prof. dr Novo Pržulj, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banjoj Luci – član.	
U Podgorici, 30.01.2020.	
	DEKAN 

PRILOG

PITANJA KOMISIJE ZA OCJENU PODOBNOSTI DOKTORSKE TEZE I KANDIDATA	
Prof. dr Nataša Mirecki, redovni profesor – predsjednik komisije	Koje su perspektive korišćenja autohtonih populacija u organskoj proizvodnji?
Prof. dr Zoran Jovović, redovni profesor – mentor	Na koji način će se utvrditi botanička pripadnost proučavanih populacija pšenice?
Akademik prof. dr Novo Pržulj, redovni profesor – član	Da li je dovoljno 8 mikrosatelitskih markera za analizu genetičkog diverziteta pšenice?
PITANJA PUBLIKE DATA U PISANOJ FORMI	
(Ime i prezime)	
(Ime i prezime)	
(Ime i prezime)	
ZNAČAJNI KOMENTARI	