

3
4 **ИЗВЕШТАЈ О НАУЧНОЈ ЗАСНОВАНОСТИ ТЕМЕ И ПОДОБНОСТИ**
5 **КАНДИДАТА ЗА ИЗРАДУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

6
7 **I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ**

8
9 **1. Датум и назив органа који је именовео комисију**

10
11
12 20. јуни, 2018., Наставно-научно веће Факултета ветеринарске медицине
13 Универзитета у Београду, 187. седница Наставно-научног већа ФВМ, УБ.

14
15
16 **2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива**
17 **уже научне области за коју је изабран у звање, године избора у звање и назив**
18 **факултета, установе у којој је члан комисије запослен:**

- 19
20
21 1. Др Зоран Станимировић, редовни професор, биологија-генетика, 2007.
22 Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду (ФВМ, УБ),
23
24 2. Др Милан Малетић, доцент, гинекологија са андрологијом, 2017.
25 Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду
26
27 3. Др Слободанка Вакањац, редовни професор, гинекологија са андрологијом, 2016.
28 Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду,
29
30 4. Др Данијела Кировски, редовни професор, физиологија, 2016.
31 Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду,
32
33 5. Др Весна Ђорђевић, виши научни сарадник, хигијена и технологија намирница
34 анималног порекла, 2016.
35 Институт за хигијену и технологију меса Београд.
36
37

38 **II МЕНТОР КОЈИ СЕ ПРЕДЛАЖЕ И ОЦЕНА ПОДОБНОСТИ ПРЕДЛОЖЕНОГ**
39 **МЕНТОРА (навести списак изабраних радова са категоризацијом, највише до 10**
40 **радова):**

41
42
43 **Ментор 1: др Станимировић Зоран, редовни професор**

44
45 Предложени ментор 1 поседује преко 90 научних радова са SCI листе (92) од
46 чега је више од 30 из категорије M21 и M22 (35). Проф. др Зоран Станимировић се
47 предлаже за ментора и члана ове Комисије, јер ће предложени кандидат сва своја
48 истраживања, па и она везана за експеримент своје докторске дисертације изводити у
49 лабораторији Катедре за биологију. Поред тога, кандидат је ангажован у својству
50 истраживача приправника на следећим пројектима под руководством проф. др Зорана
51 Станимировића:

52
53 - Ев. бр. ИИИ46002 (Министарство просвете, наука и технолошког развоја
54 Републике Србије)

55
56 - Ев. бр. RC 20774 (International Atomic Energy Agency).
57

58 Осим свега наведеног, проф. др Зоран Станимировић се бави молекуларно-генетичком
59 дијагностиком код домаћих животиња и поседује значајан број радова који се односе на
60 генетику говеда, нарочито млечних раса.

1 Ristanic M., Stanisic Lj., Maletic M., Glavinic U., Draskovic V., Aleksic N., Stanimirovic Z.
2 (2018) Bovine foetal sex determination—Different DNA extraction and amplification
3 approaches for efficient livestock production. *Reproduction in Domestic Animals*, 2018;00:1–
4 8, DOI: 10.1111/RDA.13193. **M21**

6 Draskovic V., Bosnjak-Neumüller J., Vasiljevic M., Petrujkic B., Aleksic N., Kukolj V.,
7 Stanimirovic Z. (2018) Influence of phytogenic feed additive on *Lawsonia intracellularis*
8 infection in pigs. *Preventive Veterinary Medicine*, 151, 46-51. **M21**

10 Stanisic Lj., Aleksic J., Dimitrijevic V., Simeunovic P., Glavinic U., Stevanovic J., Stanimirovic
11 Z. (2017) New insights into the origin and the genetic status of the Balkan donkey from
12 Serbia. *Animal Genetics*, 48, 580-590. **M21**

14 Davitkov Dajana., Davitkov D., Vucicevic M., Stanisic Lj., Radakovic M., Glavinic U.,
15 Stanimirovic Z. (2017) A molecular and haematological study of *Theileria equi* in Balkan
16 donkeys. *Acta Veterinaria Hungarica*, 65, 234–241. **M22**

18 Radakovic M., Davitkov D., Borozan S., Stojanovic S., Stevanovic J., Krstic V., Stanimirovic
19 Z. (2016) Oxidative stress and DNA damage in horses naturally infected with *Theileria equi*.
20 *The Veterinary Journal*, 217, 112–118. **M21**

22 Prodanovic R., Koricanac G., Vujanac I., Djordjevic A., Pantelic M., Romc S., Stanimirovic Z.,
23 Kirovski D. (2016) Obesity-driven prepartal hepatic lipid accumulation in dairy cows is
24 associated with increased CD36 and SREBP-1 expression. *Research in Veterinary Science*,
25 107, 16-19. **M21**

27 Vucicevic M., Slijepcevic D., Davitkov D., Avdalovic V., Aleksic-Kovacevic S., Stevanovic J.,
28 Stanimirovic Z. (2016) First report of Polycystic kidney disease occurrence in Persian cats in
29 Serbia. *Veterinaria Italiana*, 52, 51-56. **M22**

31 Davitkov, D., Vucicevic M., Stevanovic J., Krstic V., Tomanovic S., Glavinic U., Stanimirovic
32 Z. (2015) Clinical babesiosis and molecular identification of *Babesia canis* and *Babesia*
33 *gibsoni* infections in dogs from Serbia. *Acta Veterinaria Hungarica*, 63, 199–208. **M22**

35 Djokovic R., Kurcubic V., Ilic Z., Cincovic M., Fratric N., Stanimirovic Z., Petrovic D. M.,
36 Petrovic P. M. (2013) Evaluation of the metabolic status of Simmental dairy cows in early and
37 mid lactation. *Animal Science Papers and Reports*, 31, 101-110. **M22**

39 Stevanovic J., Stanimirovic Z., Dimitrijevic V., Maletic M. (2010) Evaluation of 11
40 microsatellite loci for their use in paternity testing in the Yugoslav Pied cattle (YU Simmental
41 cattle). *Czech Journal of Animal Science*, 55, 221-226. **M22**

44 **Ментор 2: др Малетић Милан, доцент**

46 Доц. др Милан Малетић је предложен за другог ментора као компетентан
47 стручњак ветеринарске медицине из области репродукције домаћих животиња и
48 патологије млечне жлезде. Докторска дисертација др Малетића заснована је на
49 истраживању генотипова протеина млека, што је област истраживања и ове докторске
50 тезе. Референце доц. др Милан Малетића указују на његову компетентност из поменуте
51 области.

54 Ristanic M., Stanisic Lj., Maletic M., Glavinic U., Draskovic V., Aleksic N., Stanimirovic Z.
55 (2018) Bovine foetal sex determination—Different DNA extraction and amplification
56 approaches for efficient livestock production. *Reproduction in Domestic Animals*, 2018;00:1–
57 8, DOI: 10.1111/RDA.13193. **M21**

1 Apic J., Stancic I., Vakanjac S., Radovic I., Milovanovic A., Barna T., Maletic M. (2016)
2 Influence of the protein content of boar seminal plasma on spermatozoa viability, motility and
3 acrosome integrity in diluted semen stored for 3 days. *Animal Reproduction*, 13, 36-41. **M22**

4
5 Maletic M., Aleksic N., Vejnovic B., Niksic D., Kulic M., Djukic B., Cirkovic D. (2016)
6 Polymorphism of κ -casein and β -lactoglobulin genes in Busha and Holstein Friesian dairy
7 cows in Serbia. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 66, 198-
8 205. **M23**

9
10 Magas V., Vakanjac S., Pavlovic V., Velebit B., Mirilovic M., Maletic M., Djuric M., Nedic S.
11 (2013) Efficiency evaluation of a bivalent vaccine in the prophylaxis of mastitis in cows. *Acta*
12 *Veterinaria-Beograd*, 63, 525-536. **M23**

13
14 Maletic M., Vakanjac S., Djelic N., Lakic N., Pavlovic M., Nedic S., Stanimirovic Z. (2013)
15 Analysis of lactoferrin gene polymorphism and its association to milk quality and mammary
16 gland health in Holstein-Friesian cows. *Acta Veterinaria-Beograd*, 63, 487-498. **M23**

17
18 Stevanovic J., Stanimirovic Z., Dimitrijevic V., Maletic M. (2010) Evaluation of 11
19 microsatellite loci for their use in paternity testing in the Yugoslav Pied cattle (YU Simmental
20 cattle). *Czech Journal of Animal Science*, 55, 221-226. **M22**

21 22 23 24 **III ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ**

25 26 27 **1. Име, име једног родитеља, презиме**

28
29 Марко (Ђорђе) Ристанић

30 31 32 **2. Датум и место рођења, општина, Република**

33
34 14. 06. 1990. године, Брчко, БИХ.

35 36 37 **3. Датум одбране, место и назив магистарске тезе**

38 39 40 **4. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука**

41
42
43 **IV ОБРАЗЛОЖЕНИ КРИТЕРИЈУМИ И РАЗЛОЗИ НА ОСНОВУ КОЈИХ СЕ ЗАСНИВА**
44 **ПОЗИТИВНА ОЦЕНА ДА ЈЕ КАНДИДАТ ПОДОБАН ДА РАДИ ДИСЕРТАЦИЈУ**
45 **(школовање, стипендије, радна биографија, учешће у пројектима, приказ научних**
46 **и стручних радова са категоризацијом):**

47
48
49 Марко Ристанић је 2005. године завршио основну школу, а 2009. године
50 Гимназију Васо Пелагић у Брчком, Република Српска. Исте године уписао је Факултет
51 ветеринарске медицине Универзитета у Београду, који је завршио 2015. године са
52 просеком 9,10 (9,10/10,00).

53
54 Током студирања био је добитник следећих стипендија и награда:

- 55 (1) Стипендија Министарство науке и технологије Републике Србије;
56 (2) Награде за постигнути успех током школовања од стране Факултета ветеринарске
57 медицине сваке године током периода студирања.

58
59 Докторске студије уписао је 2015. године на Факултету ветеринарске медицине
60 у Београду и одслушао је последњи семестар. На научно-истраживачки пројекат
61 ИИИ46002, којим руководи проф. др Зоран Станимировић, укључен је од 01. 11. 2015.

1 године као истраживач приправник и у том својству запослен на Катедри за биологију
2 Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду. Одмах по запослењу,
3 укључен је у извођење практичне наставе на предметима: Зоологија, Узгој и нега пчела,
4 Узгој и нега дивљих и егзотичних животиња, Ветеринарска генетика и Молекуларно-
5 генетичке методе у ветеринарској медицини. На истој Катедри у оквиру Лабораторије за
6 генетику домаћих животиња, дивљачи и пчела овладао је следећим методама:
7 екстракција ДНК и РНК, гел електрофореза, амплификација ДНК методом PCR
8 (*Polymerase Chain Reaction*), RT-PCR (*Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*),
9 као и real-time qPCR и PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), методама
10 за одређивање параметара оксидативног стреса и методама за детекцију оштећења
11 ДНК (комет тест).

12
13 Марко Ристанић, активно је укључен у следеће националне и међународне научно-
14 истраживачке пројекте:

- 15
16 1. Молекуларногенетичка и екофизиолошка истраживања у заштити аутохтоних
17 анималних генетичких ресурса, очувања добробити, здравља и репродукције
18 гајених животиња и производњи безбедне хране, Ев. бр. ИИИ46002.
19 Руководилац: Проф. др Зоран Станимировић
20
- 21 2. Истраживачки пројекат финансиран од стране *International Atomic Energy Agency*
22 (IAEA) под називом Animal Identification, Pedigree, Exterior and Performance Data
23 Recording in Selected Holstein-Friesian (HF) Cattle Population in Serbia Used for
24 Future Genetic Selection under AI Programmes (Research Contract 20774), који је
25 део пројекта IAEA D31028, под називом Application of Nuclear and Genomic Tools to
26 Enable for the Selection of Animals with Enhanced Productivity Traits.
27 Руководилац: Проф. др Зоран Станимировић
28
- 29 3. Билатерални пројекат између Србије и Словеније финансиран од стране
30 министарстава науке обе земље: „Имуни одговор медоносних пчела третираних
31 пестицидима у ларвеном стадијуму и накнадно инфицираних микроспорицијом
32 *Nosema ceranae*“.
33 Руководилац: Проф. др Јевросима Стевановић
34
- 35 4. COST акција CA 15132 „Комет тест као метода биомониторинга код људи –
36 hCOMET“.
37 Руководилац: Проф. др Нинослав Ђелић
38
- 39 5. Пројекат финансиран од стране Фонда за иновациону делатност Министарства
40 просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије; Иновациони ваучер
41 број 157 – „Оптимизација и примена методе за утврђивање типа β –казеина код
42 говеда – A2A2 млеко“.
43 Руководилац: Марко Ристанић.
44

45 **Научни радови у међународним часописима са SCI листе:**

46 Ristanic M., Stanisic Lj., Maletic M., Glavinic U., Draskovic V., Aleksic N., Stanimirovic Z.
47 (2018) Bovine foetal sex determination—Different DNA extraction and amplification
48 approaches for efficient livestock production. *Reproduction in Domestic Animals*, 2018;00:1–
49 8, DOI: 10.1111/RDA.13193 **M21**

50
51
52 Dacic S., Djelic N., Radakovic M., Lakic N., Veselinovic A., Ristanic M., Andjelkovic M. (2016)
53 Effects of photopolymerisation on genotoxicity of composite adhesives in the comet assay.
54 *Genetika*, 48, 617-627. **M23**
55

56 Stanimirovic Z., Glavinic U., Lakic N., Radovic D., Ristanic M., Taric E., Stevanovic, J. (2017)
57 "Efficacy of plant-derived formulation "Argus Ras" in *Varroa destructor* control." *Acta*
58 *Veterinaria-Beograd*, 67, 191-200. **M23**
59
60
61

1 **Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M34):**

2
3 Draskovic V., Bosnjak-Neumuller J., Vasiljevic M., Ristanic M., Radakovic M., Kukolj V.,
4 Stanimirovic Z. (2017) Effect of phytogenic feed additive on the level of *Lawsonia*
5 *intracellularis* antigen expression on the intestinal mucosa of pigs. Book of abstracts, 8th
6 Asian Pig Veterinary Academic Conference, 12-15 May 2017, pp. 300-301, Wuhan, Hubei
7 province, China.

8
9 Draskovic V., Bosnjak-Neumuller J, Raj J., Vasiljevic M., Ristanic M, Aleksic N., Stanimirovic
10 Z. (2018) A technique to monitor plant-based feed additive's efficacy in controlling *Lawsonia*
11 *intracellularis* infections in pigs. Book of abstracts, 25th International pig veterinary society
12 congress, 11-14 June 2018, pp 130, Chongqing, China.

13
14 **Предавање по позиву са скупа националног значаја штампано у изводу (M62)**

15
16 Ristanic M, Stanisic Lj., Maletic M., Glavinic U., Draskovic V., Aleksic N., Stanimirovic Z.
17 (2018) Prenatalna determinacija pola kod goveda – različite metode DNK ekstrakcije i
18 amplifikacije u cilju efikasnije stočarske proizvodnje. Zbornik kratkih sadržaja, 23. godišnje
19 savjetovanje doktora veterinarke medicine Republike Srpske (Bosna i Hercegovina) sa
20 međunarodnim učešćem, 6-9 jun 2018, Teslić, Banja Vrućica, BiH, str. 191-192.

21
22 **Саопштење са скупа националног значаја штампано у целини (M63)**

23
24 Stevanovic J., Glavinic U., Ristanic M, Draskovic V., Stanimirovic Z. (2018) Kvantitativni real-
25 time PCR u praćenju infekcija, reakcija organizama na patogene i proceni efikasnosti lekova i
26 dijetetskih suplemenata (plenarno predavanje). Zbornik predavanja XXXIX Seminara za
27 inovacije znanja veterinara, Feb 23, str. 27-35, Beograd, Srbija.

28
29 **Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу (M64):**

30
31 Ristanic M., Skadric I., Stanisic Lj., Glavinic U., Dimitrijevic V., Stevanovic J., Stanimirovic Z.
32 (2016) Kreiranje i standardizacija novog mikrosatelitskog panela za utvrđivanje roditeljstva
33 kod ovaca. Zbornik predavanja, 7. Naučni Simpozijum Reprodukcijska domaćih životinja, 6-9.
34 okt. 2016, Divčibare, Srbija, str. 145-146.

35
36
37 **V ОЦЕНА ПОДОБНОСТИ ТЕМЕ:**

38 **1. Наслов дисертације:**

39
40
41 **Компаративне анализе полиморфизма β-казеинског гена (A1/A2 генотип)**
42 **и његов утицај на квалитативни састав млека код високомлечних и**
43 **аутохтоних раса говеда**

44
45
46 **2. Предмет истраживања (без литаратурних навода, до 700 речи):**

47
48 Млеко је један од најважнијих извора протеина у исхрани људи и младунчади
49 животиња. Казеин чине око 80 % укупних протеина млека. Кравље млеко садржи 4
50 врсте казеина: α-s1- (CSN1S1), α-s2- (CSN1S2), β- (CSN2) и κ-казеин (CSN3). Од свих
51 гена који кодирају синтезу протеина млека, ген за β-казеин је најполиморфнији и
52 постоји 13 различитих форми овог протеина. Најчешће форме β-казеина код
53 млечних раса говеда су А1 и А2. Већина млечних раса носи А1- β -казеински ген,
54 осим говеда расе џерзеј и гернзеј, која су носиоци А2 типа. Међутим, занимљиво је
55 да се овај ген ретко или никако не појављује код старих, примитивних раса говеда.
56 Зато се сматра се да је А2 тип оригинални β-казеински протеин, који је постојао пре
57 него што су мутације изазвале појаву А1 типа β-казеина код европских раса говеда.
58 А1- и А2-β-казеинске форме се разликују у једној аминокиселини на 67. месту у
59 ланцу дугом 209 аминокиселина: код А1 типа казеина, уместо пролина (као што је
60 случај код А2 типа) налази се хистидин. Ова разлика у структури, резултира тиме

1 што се приликом дигестије А1- β-казеина ослобађа опиоидни пептид β-казоморфин-7
2 (BCM-7), 10 пута потентнији од морфијума, који може довести до штетних ефеката у
3 људском организму као што су исхемична болест срца, инсулин-зависан дијабетес,
4 атеросклероза, изненадна смрт одојчади, аутизам и шизофренија. Поред тога,
5 откривено је да β-казеин има утицај и на производне карактеристике млечних крава,
6 те да присуство А2- β-казеина позитивно утиче на повећање млечности и садржаја
7 протеина у млеку. Требало би детаљно испитати ефекат А1 алела β-казеина на
8 здравље људи. Међутим, због доказаних штетних ефеката А1- β-казеина, и
9 позитивних дејства А2- β-казеина, све више се ради на селекцији бикова који
10 поседују А2А2 генотип.

11
12 Предмет овог истраживања ће бити генотипизација β-казеинског гена код
13 бикова млечних раса говеда који се користе за оплодњу на територији Републике
14 Србије, као и испитивање утицаја типа гена на производне карактеристике млечних
15 грла. Поред тога, с обзиром да Србија поседује изузетан генетски фонд аутохтоних
16 раса говеда (буша и подолац), сматрамо да би, иако се оне не користе у интензивној
17 производњи млека, од великог значаја било испитати њихове генотипове β-
18 казеинског гена. Ова истраживања би се обавила применом софистицираних
19 молекуларногенетичких метода; изолације ДНК, амплификације ДНК β-казеинских
20 генских алела А1 и А2 типа употребом ланчане реакције полимеразе (PCR).

21
22
23 **3. Подаци из изабране литературе (са наводима из литературе приказаних у**
24 **оквиру текста и списком референци коришћених у тексту, до 700 речи и 10**
25 **референци):**

26
27
28 β-казеински састав млека је економски изузетно битна особина млечних крава.
29 То је по заступљености други протеин у крављем млеку и јавља се у 12 генетских
30 варијанти: А1, А2, А3, В, С, D, Е, F, Н1, Н2, I и G β-казеин, од којих су А1 и А2
31 варијанте уобичајене, док су остале варијанте мање учесталости.

32
33 β-казеин је полипептидни ланац састављен од 209 аминокиселина. Разлика
34 између А1- и А2-β-казеинске варијанте је у једној аминокиселини на позицији 67, која
35 је у случају А1 типа β-казеина хистидин, док је код А2 типа - пролин. У гену који
36 кодира бовини А1 тип β-казеина, гуанин (G) је супституисан аденином (A) на 8101.
37 позицији (GenBank M55158). Хистидин, који се налази у млеку добијеном од крава
38 које имају ген за синтезу А1-β-казеина, поседује слабу везу која се веома лако
39 раскида, те се потом ослобађа биоактивни пептид β-казоморфин 7 (BCM-7), док
40 пролин гради јаку везу која се не раскида током дигестије. Због тога полиморфизам
41 на 67. месту полипептидног ланца доводи до ослобађања биоактивног пептида BCM-
42 7 приликом дигестије А1- β-казеина, али не и током дигестије А2- β-казеина (Elliot и
43 сар., 1999).

44
45 Главни егзогени опиоидни пептиди пореклом из протеина млека су β-
46 казоморфини, који се ослобађају приликом дигестије одређених варијанти β-казеина,
47 углавном А1 и В типа. BCM-7 испољава своја опиодна дејства преко mu- и delta-
48 опиодних рецептора на разна ткива и органе укључујући дигестивни (Zoghbi и сар.,
49 2006), респираторни (Sun и сар., 2003) и имуни систем (Gill и сар., 2000). BCM-7 је
50 катализатор оксидације липопротеина ниске густине (Low density lipoproteins - LDL).
51 Бовини BCM-7 може да подстакне потенцијални развој исхемијске болести срца код
52 људи (Laugesen и Elliott, 2003), инсулин-зависан дијабетес (Elliot и сар., 1999,
53 Laugesen и Elliott, 2003;), атеросклерозу (Tailford и сар., 2003), изненадну смрт код
54 одојчади, аутизам и шизофренију (Sun и сар., 2003). Поред позитивног утицаја на
55 здравље које А2 варијанта β-казеина поседује, она такође позитивно утиче на
56 млечност и квалитет крављег млека, поготово на садржај протеина (Olenski и сар.,
57 2010), док А1 варијанта показује супротан утицај. Истраживање Малетића и сар.
58 (2016) показала су да чак и други типови казеина (κ-казеин) имају сличан утицај на
59 квалитативне и квантитативне особине млека. Elliott и сар. (1999) су упоредили
60 инциденцу дијабетеса типа 1 код деце старости до 14 година са националном

1 потрошњом крављег млека у 10 држава. Док укупан унос протеина није корелирао са
2 инциденцом дијабетеса, постојала је веза између конзумирања млека које садржи
3 А1- β -казеинску форму и инциденце дијабетеса ($r = 0.73$). Корелација са појавом
4 дијабетеса била је још виша ($r = 0.98$; Elliott и сар., 1999) при конзумирању млека са
5 оба типа β -казеина (А1 и В).

6
7 Потрошња млека које садржи А1 и А2 форму β -казеина привлачи много пажње у
8 јавности. На Новом Зеланду једна компанија чак пласира на тржиште млеко које
9 садржи искључиво А2 форму јер конзумирање таквог млека смањује вероватноћу
10 појаве наведених обољења. Olenski и сар. (2012) наводе да је међу пољским
11 биковима холштајн-фризијске расе од 650 испитаних 79 било са А1А1, 294 са А1А2 и
12 217 са А2А2 генотипом. Malarmathi и сар. (2014) су вршили генотипизацију 22 бика
13 примитивне индијске расе кангејем и 53 грла мелеза индијске расе кангејем и
14 холштајн-фризијског говечета. Код бикова расе кангејем ниједно грло није имало
15 А1А1 или А1А2 генотип, што се поклапа са констатацијом да се код примитивних
16 раса говеда јавља искључиво А2А2 генотип β -казеина. Генотипска фреквенца А1А1
17 типа β -казеина код укрштеног холштајн-фризијског говечета је била 0,17; А1А2, 0.46;
18 А2А2, 0,37, док код примитивне кангејем расе генотипска фреквенца је била за А1А1
19 и А1А2 генотип 0, а за А2А2 генотип 1 (Malarmathi и сар., 2014).

20 21 22 **Списак референци:**

23
24
25 Elliott R. B., Harris P., Hill, P., Bibby J., Wasmuth E. (1999) Type I (insulin-dependent)
26 diabetes mellitus and cow milk: casein variant consumption. *Diabetologia*, 42, 292-296.

27
28 Zoghbi S., Trompette A., Claustre J., Homsy M., Garzón J., Jourdan G., Scoazec J.,
29 Plaisancié P. (2006) " β -Casomorphin-7 regulates the secretion and expression of
30 gastrointestinal mucins through a μ -opioid pathway. *American Journal of Physiology-*
31 *Gastrointestinal and Liver Physiology*, 290, G1105-G1113.

32
33 Sun Z., Zhang Z., Wang X., Cade R., Elmir Z., Fregly M. (2003) Relation of β -
34 casomorphin to apnea in sudden infant death syndrome. *Peptides*, 24, 937-943.

35
36 Gill H., Doull F., Rutherford K., Cross M. (2000) Immunoregulatory peptides in bovine
37 milk. *British Journal of Nutrition*, 84, 111-117.

38
39 Laugesen M., Elliott R. (2003) Ischaemic heart disease, Type 1 diabetes, and cow milk
40 A1 β -casein. *The New Zealand Medical Journal*, 116, 1-19.

41
42 Tailford K., C. Berry, A. Thomas, and J. Campbell (2003) A casein variant in cow's milk is
43 atherogenic. *Atherosclerosis*, 170, 13-19.

44
45 Oleński K., Kamiński S., Szyda J., Cieslinska A. (2010) Polymorphism of the beta-casein
46 gene and its associations with breeding value for production traits of Holstein-Friesian
47 bulls. *Livestock Science*, 131, 137-140.

48
49 Oleński K., Cieślińska A., Suchocki T., Szyda J., Kamiński S. (2012) Polymorphism in
50 coding and regulatory sequences of beta-casein gene is associated with milk production
51 traits in Holstein-Friesian cattle. *Animal Science Papers and Reports*, 30, 5-12.

52
53 Maletic M., Aleksic N., Vejnovic B., Niksic D., Kulic M., Djukic B., Cirkovic D. (2016)
54 "Polymorphism of κ -casein and β -lactoglobulin genes in Busha and Holstein Friesian
55 dairy cows in Serbia. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*,
56 66, 198-205.

57
58 Malarmathi M., Senthil Kumar T., Parthiban M., Muthuramalingam T., Palanisammi A.
59 (2014) "Analysis of β -casein gene for A1 and A2 genotype using allele specific PCR in

1 Kangeyam and Holstein-Friesian crossbred cattle in Tamil Nadu. *Indian Journal of*
2 *Veterinary and Animal Science Research*, 43, 310-315.

3 4 5 **4. Циљ истраживања (описно)**

6
7
8 Циљ ове докторске дисертације јесте анализа полиморфизма β -казеинског гена
9 (A1/A2 генотип) и његов утицај на квалитативни састав млека код високомлечних и
10 аутохтоних раса говеда.

11 12 13 **5. Очекивани резултати:**

- 14
15
- 16 • Генотипизација и утврђивање учесталости испитиваних генотипова
17 (A1A1/A1A2/A2A2) у популацији бикова, уз одабир оних са A2A2 генотипом који ће
18 даље бити укључени у интензивну производњу биковског семена.
 - 19 • Генотипизација и утврђивање учесталости испитиваних генотипова ћерки
20 одабраних бикова са A2A2 генотипом β -казеина које ће бити укључене у програм
21 интензивне производње A2A2 млека (нов производ – A2A2 млеко).
 - 22 • Утврђивање учесталости A2A2 генотипа за β -казеин код аутохтоних говеда расе
23 буша.

24
25
26 Очекујемо да ће резултати планираних истраживања дати добру методологију
27 за успешну селекцију бикова на A2 тип β -казеина у будућности. Корист од овог
28 истраживања имаће и центри за производњу биковског семена јер ће добити потпуни
29 увид у заступљеност одређених генотипова β -казеина и тиме у каталозима моћи
30 истицати овај податак као добар селекцијски параметар. Такође, ова истраживања ће
31 дати основу за добијање новог производа - A2A2 млека, које поседује благотворна
32 својства по конзументе млека и млечних производа.

33 34 35 36 **6. План истраживања (приказан у фазама):**

- 37
38
- 39 • Прикупљање узорака дубоко замрзнутог семена бикова (50 грла) из домаћих
40 центара за репродукцију (Велика Плана, Крњача, ПКБ корпорација, Темерин и
41 Макси Булс).
 - 42 • Прикупљање узорака крви од аутохтоних говеда расе буша (30 грла) са
43 различитих узгојних локалитета у Србији.
 - 44 • Идентификација ћерки (100 грла) одређених бикова укључених у експеримент.
 - 45 • Прикупљање података о производним резултатима одабраних ћерки.
 - 46 • Изолација и амплификација ДНК (PCR–AS-PCR и RFLP-PCR) и визуелизација
47 резултата на агарозном гелу.
 - 48 • Обрада резултата.
- 49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59

1 **7. Материјал, методе истраживања и опрема која ће се користити за**
2 **експериментални рад.**

3
4 **1. Материјал:**

5
6 **Бикови.** Материјал који ће се користити за изолацију потребне ДНК и за даља
7 молекуларногенетичка испитивања је замрзнуто семе бикова које постоји у депоима
8 центара за репродукцију. Од бикова чији узорци семена се не чувају, биолошки
9 материјал за изолацију ДНК биће крв или длака.

10
11 **Краве.** За изолацију ДНК и даља молекуларногенетичка испитивања користиће
12 се крв или длака млечних крава. Крв ће се сакупљати асептично пункцијом репне вене у
13 вакутајнере запремине 10 мл са додатим антикоагулансом (EDTA) и чувати на 4°C до
14 изолације ДНК. Сва крв биће сакупљена у оквиру редовних активности везаних за
15 спровођење Програма мера здравствене заштите животиња. За сваки узорак користиће
16 се нове стерилне рукавице, игле и вакутајнери. Подаци о концентрацији протеина,
17 млечне масти и млечности праћених ћерки преузимаће се директно из базе података
18 одговарајућих газдинстава.

19
20 **2. Методе:**

21
22
23 **Изолација геномске ДНК** биће извршена применом комерцијалног сета
24 (GeneJET Whole Blood isolation kit, Thermo Scientific) у складу са протоколом
25 произвођача, а који је оптимизован раније (Ristanic и сар., 2018), за услове
26 Лабораторије за генетику домаћих животиња, дивљачи и пчела Факултета
27 ветеринарске медицине Универзитета у Београду. Изолати ће бити чувани на -20°C до
28 амплификације.

29
30 Користиће се две методе амплификације ДНК:

- 31
32 • **Алелски специфичан-PCR (Polymerase Chain Reaction) (Allele-specific PCR –**
33 **AS-PCR)** уз помоћ прајмера који су у свом раду навели Ganguly и сар. (2013).

34
35 Прајмери су:

36
37 Forward прајмер са А нуклеотидом (IGBhF 5' CTT CCC TGG GCC CAT CCA 3') или
38 Forward прајмер са С нуклеотидом (IGBpF 5' CTT CCC TGG GCC CAT CCC 3') на 32.
39 крају и заједнички:

40
41 Reverse прајмер: (IGBR 5' AGA CTG GAG CAG AGG CAG AG 3')
42 који ће се користити за амплификацију фрагмента величине 244 базна пара β-
43 казеинског гена. Улога прајмерских парова IGBhF-IGBR и IGBpF-IGBR је да умноже
44 специфичне ампликоне хистидина (A1) и пролина (A2). Након умножавања, специфични
45 ампликони ће бити визуализовани у агарозном гелу, процесом гел-електрофорезе.

46
47 • **Полиморфизам у дужини рестрикционих фрагмената-PCR (Restriction**
48 **Fragment Length Polymorphism – RFLP-PCR)** помоћу прајмера коју су раније описани од
49 стране Lien и сар. (1992).

50
51 Прајмери су:

52
53 Forward прајмер CASB122L:
54 5' GAG TCG ACT GCA GAT TTT CAA CAT CAG TGA GAG TCA GGC CCT G 3'

55
56 Reverse прајмер CASB67R:
57 5' CCT GCA GAA TTC TAG TCT ATC CCT TCC CTG GGC CCA TCG 3'

58
59 који ће се користити да амплификују фрагмент величине 251 базни пар на егзону 7 β-
60 казеинског гена. Након умножавања, специфични ампликони ће бити визуализовани у

1 агарозном гелу процесом гел-електрофорезе, а затим ће би извршена дигестија PCR
2 продуката помоћу TaqI ензима. После дигестије продукти ће поново бити
3 визуализовани процесом гел-електрофорезе.

4 5 **Списак референци:**

6
7 Ristanic M., Stanisic Lj., Maletic M., Glavinic U., Draskovic V., Aleksic N., Stanimirovic Z.
8 (2018). Bovine foetal sex determination—Different DNA extraction and amplification
9 approaches for efficient livestock production. *Reproduction in Domestic Animals*, 2018;00:1–
10 8, DOI: 10.1111/RDA.13193

11
12 Ganguly I., Gaur G. K., Singh U., Kumar S., Kumar S., Mann, S. (2013). Beta-casein (CSN2)
13 polymorphism in Ongole (Indian zebu) and Frieswal (HF× Sahiwal crossbred) cattle. *Indian*
14 *Journal of Biotechnology*, 12, 195-198

15
16 Lien S., Aleström, P., Klungland, H., Rogne, S. (1992). Detection of multiple β -casein (CASB)
17 alleles by amplification created restriction sites (ACRS). *Animal Genetics*, 23, 333-338.

18 19 **8. Место где ће се спроводити истраживање.**

20
21 Лабораторија за генетику домаћих животиња, дивљачи и пчела Катедре за
22 биологију и Лабораторија Катедре за породилство, стерилитет и вештачко
23 осемењавање Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду.

24 25 **9. Остали релевантни подаци: методе статистичке обраде, веза на шире** 26 **истраживачке пројекте ако су истраживања у оквиру докторске дисертације** 27 **њихов део и сл:**

28
29 У статистичкој анализи резултата изведеног експеримента као основне
30 статистичке методе биће коришћени дескриптивни статистички показатељи (мере
31 централне тенденције, стандардна девијација, стандардна грешка, интервал варијације
32 и коефицијент варијације). Ови показатељи омогућавају описивање експерименталних
33 резултата и њихово тумачење. Даља статистичка анализа одвијаће се у зависности да
34 ли су анализирани подаци нормално дистрибуирани или не. Тестирање на нормалну
35 дистрибуцију биће изведено помоћу Колмогоров-Смирнов (Kolmogorov-Smirnov) теста.
36 У случају нормалне дистрибуције података за поређење разлика између
37 експерименталних група користитиће се параметријска анализа варијансе (One-Way
38 Analysis of Variances). Ако подаци нису нормално дистрибуирани употребљаваће се
39 непараметријска Крускал-Валисова анализа варијансе (Kruskal-Wallis Analysis of
40 Variance). Уколико постоје статистички сигнификантне разлике између група, парови
41 група биће међусобно поређени путем параметријског Тукијевог (Tukey) теста, односно
42 непараметријског Dunn's Multiple Comparison теста. Сви добијени резултати приказаће
43 се табеларно и графички. Статистичка анализа биће урађена у статистичком пакету
44 GraphPad Prism верзија 6.00 за Windows (GraphPad Software, San Diego, California,
45 USA) www.graphpad.com и MS Excel програму.

46
47 Истраживања у оквиру ове докторске дисертације изведени су у оквиру пројеката:

- 48
49 1. Пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије,
50 под називом „Молекуларно-генетичка и еколошка истраживања у заштити
51 аутохтоних анималних генетичких ресурса, очувања добробити, здравља и
52 репродукције гајених животиња и производње безбедне хране“, ев. бр. ИИИ46002,
53 под руководством проф. др Зорана Станимировића.
54
55 2. Пројекта Међународне агенције за атомску енергију (IAEA), “IAEA Coordinated
56 Research Project CRP.D3.10.28”, под називом: “Animal identification, pedigree, exterior
57 and performance data recording in selected Holstein Friesian cattle population in Serbia
58 used for future genetic selection under AI programme”, ев. бр. 20774, под
59 руководством проф. др Зорана Станимировића.

1 **VI ЗАКЉУЧАК СА ОБРАЗЛОЖЕНОМ ОЦЕНОМ О ПОДОБНОСТИ ТЕМЕ И**
2 **КАНДИДАТА:**

3
4 На основу приложене пријаве и увида у релевантну литературу, Комисија
5 закључује да је тема докторске дисертације научно заснована. Анализом учесталости
6 испитиваних генотипова β -казеина (A1A1/A1A2/A2A2) у популацији бикова и биковских
7 кћерки обезбедиће се одабир оних са A2A2 генотипом који ће даље бити укључени у
8 интензивну производњу биковског семена, односно млека (нов производ – A2A2 млеко).
9 Такође, применом наведених метода утврдиће се учесталост A2A2 генотипа за β -
10 казеин код аутохтоне расе говеда буша у циљу провере хипотезе да све примитивне
11 расе говеда поседују оригинални тип β -казеина – A2 (A2A2 генотип). Наведена
12 истраживања представљаће солидну основу за даљу успешну селекцију бикова и
13 биковских кћерки на A2 тип β -казеина.

14 Планирани експеримент је у потпуности у сагласности са постављеним циљем и
15 задацима на које дисертација треба да одговори. Предложене методе рада су
16 савремене и јасно дефинисане, а њихова примена ће дати прецизне и недвосмислене
17 резултате.

18 Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета ветеринарске медицине
19 Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и одобри Марку Ристанићу, др вет.
20 мед. израду докторске дисертације под насловом

21
22 **Компаративне анализе полиморфизма β -казеинског гена (A1/A2 генотип) и његов**
23 **утицај на квалитативни састав млека код високомлечних и аутохтоних раса**
24 **говеда.**
25

26 Израда докторске дисертације обавиће се у Лабораторији за генетику домаћих
27 животиња, дивљачи и пчела Катедре за биологију и Лабораторији Катедре за
28 породилство, стерилитет и вештачко осемењавање Факултета ветеринарске медицине
29 Универзитета у Београду.

30
31 Предлаже се да ментори при изради ове докторске дисертације буду др Зоран
32 Станимировић, редовни професор и др Милан Малетић, доцент, наставници Факултета
33 ветеринарске медицине Универзитета у Београду.

34
35 ДАТУМ: 11.07.2018.

36
37 **ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ:**

- 38
39 1. Др Зоран Станимировић, редовни професор
40 Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду
41
42 _____
43 2. Др Милан Малетић, доцент
44 Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду
45
46 _____
47 3. Др Слободанка Вакањац, редовни професор
48 Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду
49
50 _____
51 4. Др Данијела Кировски, редовни професор
52 Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду
53
54 _____
55 5. Др Весна Ђорђевић, виши научни сарадник
56 Институт за хигијену и технологију меса Београд
57
58 _____
59
60