

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

Београд – Земун

Предмет: Извештај Комисије за оцену и одбрану урађене докторске дисертације кандидата Иве Савић, мастер инжењера пољопривреде

На основу члана 57. Став 1. Правилника о правилима докторских студија Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 29.03.2023. године донело је одлуку бр. 32/16-4.1. да се образује Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата Иве Савић, мастер инжењера пољопривреде, под насловом: „Карактеризација врста из *Fusarium fujikuroi* комплекса патогена зрна стрних жита у Србији”. Комисија у саставу др Наташа Дудук, редовни професор, др Славица Станковић, научни саветник, Институт за кукуруз „Земун Поље“, Београд, др Ивана Вицо, редовни професор, др Весна Кандић, виши научни сарадник, Институт за кукуруз „Земун Поље“, Београд и др Милица Лучев, научни сарадник, Институт за кукуруз „Земун Поље“, Београд, подноси следећи извештај:

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација кандидата Иве Савић, мастер инжењера, написана је на укупно 107 страница писаног текста укључујући 23 оригиналне фотографије, 11 графикана и 25 табела, а цитирано је 272 извора литературе. Испред основног текста налази се насловна страна на српском и енглеском језику, информације о ментору и члановима комисије, захвалница и резиме са кључним речима на српском и енглеском језику.

Докторска дисертација садржи седам основних поглавља, и то: Увод (страна 1), Преглед литературе (стране 3-15), Материјал и методе (стране 16-26), Резултати (стране 27-69), Дискусија (стране 70-77), Закључак (стране 78-79) и Литература (стране 80-103). На крају текста налази се Биографија кандидата (страна 104), Изјава о ауторству (страна 105), Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације (страна 106) и Изјава о коришћењу (страна 107).

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације показала су да су врсте *Fusarium fujikuroi* комплекса патогени зрна стрних жита у Србији. На зрну обичне пшенице, дурум

пшенице, јечма и тритикалеа идентификоване су три врсте *F. fujikuroi* комплекса: *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* и *F. subglutinans*. Њихово присуство на зрну пшенице и јечма је потврђено у нашој земљи, док је у овим истраживањима први пут показано да су присутне и на зрну дурум пшенице код нас, као и на зрну тритикалеа у свету. Одабрани изолати идентификованих врста су детаљно окарактерисани на основу молекуларних, морфолошких, патогених и токсиколошких карактеристика. Детаљном морфолошком карактеризацијом показано је да начин формирања микроконидија може послужити у прелиминарној идентификацији врста, као и да је TEF 1- α регион најпогоднији за идентификацију врста *F. fujikuroi* комплекса. Детекција врста је поуздана и применом специфичних прајмера. Утврђено је да на вирулентност врста утичу како домаћин, тако и услови спољашње средине. Способност синтезе фумонизина утврђена је код изолата из стрних жита, која је посебно била изражена код врста *F. verticillioides* и *F. proliferatum*.

Увод. У уводном поглављу указано је на значај проучавања врста рода *Fusarium* на стрним житима, а посебно врста из *F. fujikuroi* комплекса у Србији и свету и приказани су основни циљеви ове дисертације.

Преглед литературе. Ово поглавље садржи четири потпоглавља у којима су изнети доступни литературни подаци: Економски значај стрних жита и њихова распрострањеност, Фузариозе стрних жита (приказани су географска распрострањеност и економски значај фузариоза, симптоми обољења, циклус развоја патогена, значајне врсте *Fusarium* spp. описане на стрним житима у свету и Србији, врсте *Fusarium fujikuroi* комплекса и фузариотоксини), Идентификација *Fusarium* spp. на основу морфолошких карактеристика (приказане су морфолошке карактеристике врста *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* и *F. subglutinans*) и Идентификација *Fusarium* spp. применом молекуларних анализа. Овако конципиран преглед литературе представља детаљан приказ најважнијих аспеката проучавања ових значајних патогена и одличну основу за праћење и анализу добијених резултата.

Материјал и методе. У овом поглављу које садржи девет потпоглавља детаљно су, на следљив начин, образложене све примењене методе. У потпоглављу Сакупљање узорака приказани су локалитети из којих су сакупљени узорци зрна стрних жита који су коришћени за даља истраживања. Потпоглавља Изолација гљива и добијање чистих изолата и Добијање моноспоријалних изолата дају опис коришћених стандардних фитопатолошких метода, а детаљно је описан и поступак провере патогености добијених изолата вештачким инокулацијама листова јечма (Провера патогености и реизолација гљива). У оквиру потпоглавља Молекуларна идентификација и карактеризација описане су методе изолације нуклеинских киселина коришћењем комерцијалног кита DNeasy PlantMini Kit QIAGEN и одређивање концентрације изолованих нуклеинских киселина.

Молекуларна детекција обухватила је коришћење више парова прајмера заснованих на гену за калмодулин и *gaoB* гену, специфичних за детекцију три врсте испитиваног комплекса. Молекуларна карактеризација урађена на основу три генска региона: ITS регион rDNA, делу гена за елонгациони фактор (TEF 1- α) и делу гена за RNA полимеразу (RPB2). Приказани су коришћени прајмери као и услови умножавања и визуелизације добијених продуката. Добијени продукти су секвенцирани у оба смера, секвенце су сређене и коришћене за поређење са секвенцама доступним у бази података GenBank и депоноване у NCBI GenBank базу података. Филогенетске анализе су урађене реконструкцијом филогенетских стабала заснованих на секвенцама ITS региона rDNA, TEF 1- α и RPB2 региона укључујући изолате из Србије и одабране референтне изолате из GenBank базе података. У оквиру потпоглавља Проучавање морфолошких карактеристика врста *Fusarium fujikuroi* комплекса описане су методе испитивања микроскопских и макроскопских карактеристика одабраних изолата, кроз оцену изгледа и боје колонија, пигментације подлоге и пораста, као и проучавања формирања монофијалида и полифијалида, облика и величине макроконидија, мезоконидија, микроконидија, присуства хламидоспора, дужине микроконидија у ланцу, броја септи и облика апикалне и базалне ћелије макроконидије. У потпоглављу Испитивање вирулентности изолата описан је поступак испитивања вирулентности изолата на листовима јечма, на класу дурум пшенице, као и на класу обичне пшенице, јечма и тритикалеа. Одређивање концентрације фумонизина (припрема узорка, екстракција и квантификација) приказано је у потпоглављу Испитивање токсиколошких карактеристика испитиваних изолата. Примењене статистичке методе описане су у поглављу Статистичка обрада података.

Резултати. Резултати истраживања приказани су јасно и концизно, у шест потпоглавља уз одговарајућа текстуална објашњења, табеле, оригиналне слике и графиконе који илуструју добијене резултате. У оквиру потпоглавља Добијени изолати врста *Fusarium fujikuroi* комплекса приказано је да је од укупно 380 узорака зрна стрних жита сакупљених из складишта са 55 локалитета у Србији добијено 146 изолата *F. fujikuroi* комплекса од којих је 50 изолата, прелиминарно идентификованих на основу начина формирања микроконија као *F. verticillioides*, *F. proliferatum* и *F. subglutinans*, одабрано за даља испитивања. У оквиру потпоглавља Провера патогености и реизолација патогена приказани су резултати успешне провере патогености испитиваних изолата и документована је појава симптома, док је из некротичног ткива успешно извршена реизолација. У потпоглављу Молекуларна идентификација и карактеризација изолата врста *Fusarium fujikuroi* комплекса приказани су резултати молекуларне детекције врста применом специфичних прајмера, као и идентификације три врсте кроз умножавања три генска региона ITS, TEF 1- α и RPB2, анализу добијених секвенци, њихово међусобно поређење, као и поређење сличности са референтним секвенцама из света депонованих у NCBI GenBank бази података. Филогенетске анализе засноване на TEF 1- α региону јасно су раздвојиле три врсте укључујући изолате из Србије, док на основу ITS и RPB2 региона

није било могуће раздвојити врсте *F. verticillioides* и *F. subglutinans*. Највећа генетичка варијабилност уочена је код врсте *F. proliferatum* и то у TEF 1-α и RPB2 региону. У потпоглављу Морфолошка карактеризација изолата врста *Fusarium fujikuroi* комплекса приказане су одлике колонија испитиваних изолата и међусобним поређењем врста уочено је да на основу изгледа и боје колоније, као и пигментације подлоге није могуће разликовати ове три врсте. Такође, између врста није уочена разлика у брзини пораста колонија. Испитивања микроскопских карактеристика изолата су показала да су сви изолати образовали макроконидије и микроконидије, мезоконидије су образовали само изолати *F. subglutinans*, док ни један изолат није образовао хламидоспоре. Поређењем димензија макроконидија три врсте уочено је да *F. subglutinans* формира дуже макроконидије, а врста *F. verticillioides* уже макроконидије. На основу димензија микроконидија уочено је да *F. proliferatum* формира краће микроконидије у поређењу са остале две врсте. Изолати *F. verticillioides* формирали су микроконидије на монофијалидама у виду дужих ланаца (10 до 35 микроконидија), изолати *F. proliferatum* формирали су микроконидије на монофијалидама и полифијалидама у краћим ланцима (седам до 18 микроконидија), док су изолати *F. subglutinans* формирали микроконидије у главицама на монофијалидама и полифијалидама. У потпоглављу Вирулентност изолата изложени су резултати испитивања вирулентности на листовима јечма, који су показали да нема разлике у вирулентности између врста *F. subglutinans* и *F. proliferatum*, док је врста *F. verticillioides* била слабије вирулентна. У двогодишњем испитивању вирулентности на класу дурум пшенице уочено је да су у другој години испитивања сви изолати били вирулентнији и да је *F. verticillioides* била вирулентнија од врста *F. proliferatum* и *F. subglutinans* које су биле подједнако вирулентне. На класу пшенице, јечма и тритикалеа уочено је да највећи утицај на вируленост има биљна врста, тако су све врсте биле највирулентније на класу пшенице, умерено вирулентне на класу тритикалеа и најслабије вирулентности на класу јечма. У потпоглављу Токсиколошке карактеристике изолата приказани су резултати серолошке детекције фумонизина који су показали присуство фумонизина у свим изолатима врста *F. verticillioides* и *F. proliferatum*, док је њихово присуство забележено само у неким изолатима врсте *F. subglutinans*.

Дискусија. У четири потпоглавља дискутовани су, тумачени и повезивани резултати истраживања са раније спроведеним истраживањима у свету и у Србији. Уочено је да појава и учесталост врста *F. fujikuroi* варира зависно од године, због чега је и опасност од контаминације микотоксинима које врсте овог комплекса стварају различита. У потпоглављу Молекуларна идентификација и карактеризација врста *Fusarium fujikuroi* комплекса анализирани су резултати примене специфичних прајмера у детекцији три врсте, као и њихова погодност и специфичност. Идентификација и карактеризација заснована на три генска региона примењена у овом раду у сагласности је са најновијим таксономским критеријумима који омогућавају поуздану идентификацију врста у оквиру овог комплекса. Анализирани су и резултати реконструкције филогенетских стабала,

којим је потврђено да TEF 1- α регион има највећу моћ раздвајања, док на основу ITS региона није било могуће раздвојити врсте *F. verticillioides* и *F. subglutinans*. На основу молекуларних анализа као проузроковачи фузариоза стрних жита у Србији идентификоване су *F. verticillioides*, *F. proliferatum* и *F. subglutinans*. Највећа генетичка варијабилност уочена је код изолата *F. proliferatum* у TEF 1- α и RPB2 региону. У потпоглављу Морфолошке карактеристике врста *Fusarium fujikuroi* комплекса анализирани су проучене макроскопске и микроскопске морфолошке карактеристике испитиваних изолата, њихова пластичност и поузданост у прелиминарној идентификацији ових врста. У потпоглављу Вирулентност врста *Fusarium fujikuroi* комплекса анализирани су резултати различитих метода испитивања патогености, узрока варијабилности, као и вирулентног потенцијала испитиване три врсте. У потпоглављу Токсиколошке карактеристике врста *Fusarium fujikuroi* комплекса дат је увид о токсигеном потенцијалу испитиваних изолата три врсте са стрних жита у производњи фумонизина и добијени резултати су упоређени са подацима из наше земље и света.

Закључак. У овом поглављу изведени су бројни закључци који у потпуности произилазе из спроведених истраживања. У току четворогодишњег истраживања од 2014. до 2017. године из зрна пшенице, дурум пшенице, јечма и тритикалеа изоловане су и идентификоване три врсте *F. fujikuroi* комплекса и то: *F. verticillioides*, *F. proliferatum* и *F. subglutinans*. Овим је потврђено њихово присуство на зрну пшенице и јечма у Србији, док су на зрну дурум пшенице први пут описане у Србији, а на зрну тритикалеа први пут у свету. Изолати су молекуларно идентификовани и окарактерисани на основу ITS, TEF 1- α и RPB2 региона, као и филогенетским анализама заснована на овим регионима. Уочено је да TEF 1- α регион има највећу моћ раздвајања, док на основу ITS региона није било могуће раздвојити врсте *F. verticillioides* и *F. subglutinans*. Специфични прајмери су се показали погодним у детекцији ових врста. На основу изгледа и боје колоније, као и пигментације подлоге и брзине пораста није могуће разликовати ове три врсте. Најдуже макроконидије образовала је врста *F. subglutinans*, док су макроконидије врста *F. verticillioides* и *F. proliferatum* биле сличних величина. На основу ширине макроконидија утврђено је да *F. verticillioides* образовала уже макроконидије у поређењу са остале две врсте. Мезоконидије су формирали само изолати *F. subglutinans*, док ни један изолат није формирао хламидоспоре. На основу начина формирања микроконидија могуће је морфолошки разликовати ове три врсте, и ове карактеристике могу бити корисне у прелиминарној идентификацији врста. На листовима јечма као и на класу дурум пшенице подједнако вирулентне су биле *F. proliferatum* и *F. subglutinans*, док је *F. verticillioides* била највирулентнија на класу дурум пшенице а на листу јечма најслабије вирулентна. На класу пшенице, јечма и тритикалеа није уочена разлика у вирулентности између врста, али је највећег утицаја на вирулентност имала биљка домаћин. Све три врсте су биле највирулентније на класу пшенице, а најмање вирулентне на класу јечма. Изолати из стрних жита *F. verticillioides* и *F. proliferatum* синтетисали су фумонизине у високим

концентрацијама за разлику од изолата *F. subglutinans* код којих је концентрација фумонизина била нижа или испод прага детекције.

Литература. У дисертацији су наведене 272 референце, како страних тако и домаћих аутора, које одговарају проучаваној проблематици, актуелне су и дају детаљан увид у проученост овог проблема у свету и у Србији.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација кандидата Иве Савић, мастер инжењера, под насловом: „Карактеризација врста из *Fusarium fujikuroi* комплекса патогена зрна стрних жита у Србији” је оригинално научно дело. Спроведена истраживања урађена су у потпуности у складу са одобреном пријавом дисертације и представљају самостални експериментално-истраживачки научни рад кандидата чиме су се стекли услови за њену јавну одбрану. Дисертација представља обимна истраживања о токсигеним врстама *F. fujikuroi* комплекса на стрним житима, а допринос се огледа у расветљавању диверзитета у Србији, а посебно на зрну дурум пшенице и тритикалеа на којима до ових истраживања није било података код нас. Идентификоване су три врсте *F. fujikuroi* комплекса и то: *F. verticillioides*, *F. proliferatum* и *F. subglutinans*. Овим истраживањима је потврђено њихово присуство на зрну пшенице и јечма у Србији, док су на зрну дурум пшенице први пут описане у Србији, а на зрну тритикалеа први пут описане у свету.

Поред тога, допринос ове дисертације је у детаљној морфолошкој, молекуларној, патогеној и токсиколошкој карактеризацији идентификованих врста. Морфолошком карактеризацијом показано је да начин формирања микроконидија може послужити у прелиминарној идентификацији врста. Утврђено је да је TEF 1- α регион најпогоднији за идентификацију врста овог комплекса. Показано је да је детекција врста поуздана и применом коришћених специфичних прајмера. Утврђена је разлика у вирулентности између врста, као и да на вирулентност утичу како домаћин, тако и услови спољашње средине. Способност синтезе фумонизина утврђена је код изолат из стрних жита, која је посебно била изражена код врста *F. verticillioides* и *F. proliferatum*. Резултати ове дисертације показују да су на зрнима стрних жита (обичне пшенице, дурум пшенице, јечма и тритикалеа) присутне врсте *F. fujikuroi* комплекса чија карактеристика да синтетишу микотоксине представља значајан економски и безбедносни проблем у производњи здравствено безбедне хране, што отвара простор за даља испитивања усмерена на праћење њихове заступљености, као и предузимања адекватних мера контроле.

Имајући у виду све изнето, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију кандидата Иве Савић, мастер инжењера, под насловом: „Карактеризација врста из *Fusarium fujikuroi* комплекса патогена зрна стрних жита у Србији” и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета, Универзитета у Београду, да ову позитивну оцену усвоји и тиме омогући кандидату да пред истом Комисијом јавно брани докторску дисертацију.

Београд-Земун

Дана 30.03.2023. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

др Наташа Дудук, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет, председник
(Ужа научна област: Фитопатологија)

др Славица Станковић, научни саветник
Институт за кукуруз „Земун Поље“, Београд, члан
(Ужа научна дисциплина: Фитопатологија)

др Ивана Вицо, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет, члан
(Ужа научна област: Фитопатологија)

др Весна Кандић, виши научни сарадник
Институт за кукуруз „Земун Поље“, Београд, члан
(Ужа научна дисциплина: Генетика и оплемењивање биљака)

др Милица Лучев, научни сарадник
Институт за кукуруз „Земун Поље“, Београд, члан
(Ужа научна дисциплина: Фитопатологија)

Прилог: Рад у међународном часопису (M23) публикован од стране кандидата Иве Савић, мастер инжењера

1. **Savić, I.**, Nikolić, M., Nikolić, A., Vico, I., Mladenović-Drinić.,S., Duduk, N., Stanković, S. (2021): The morfological and molecular identification of *Fusarium verticillioides* causing fusariosis on wheat grain. *Genetika*, 53(2): 641-649.
<https://doi.org/10.2298/GENSR2102641S>

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Београд - Земун

Предмет: Изјава о оригиналности докторске дисертације „Карактеризација врста из *Fusarium fujikuroi* комплекса патогена зрна стрних жита у Србији”, аутора Иве Савић

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и Извештаја из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације „Карактеризација врста из *Fusarium fujikuroi* комплекса патогена зрна стрних жита у Србији”, аутора Иве Савић, дана 01.03.2023. године, константујем да утврђена количина подударача текста износи 15%. Овај степен подударности последица је личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, тзв. општих места и података, цитата, као и претходно публикованих резултата истраживања докторанда, који су проистекли из њене дисертације, што је у складу са чланом 9. овог Правилника.

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

У Београду, 15.03.2023. године

Ментор

др Наташа Дудук, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
