

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Драгане Радуновић, мастер инж.

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовео комисију 06. октобар 2015. године, Наставно-научно веће Пољопривредног факултета</p> <p>2. Састав комисије са знаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <p>др Вера Стојшин, редовни професор, ужа н.о. Фитопатологија, 09.12.2013. Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет – ментор</p> <p>др Вељко Гавриловић, виши научни сарадник, ужа н.о. Фитопатологија, 28.04.2016. Институт за заштиту биља и животну средину, Београд – ментор</p> <p>др Мила Граховац, доцент, ужа н.о. Фитопатологија, 12.02.2015. Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет – члан</p> <p>др Ференц Баги, редовни професор, ужа н.о. Фитопатологија, 09.02.2017. Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет – члан</p> <p>др Јелена Зиндовић, виши научни сарадник, ужа н.о. Фитопатологија, 29.04.2015. Универзитет Црне Горе, Биотехнички факултет, Подгорица – члан</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Драгана (Здравко) Радуновић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 03.10.1965., Кикинда, Р. Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Пољопривредни факултет, Фитомедицина-фитофармација, мастер инжењер пољопривреде</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2011. година, Агрономија</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: /</p> <p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука /</p>

III НАСЛОВ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Распрострањеност, домаћини и карактеризација популације *Erwinia amylovora* у Црној Гори

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Дисертација садржи 9 поглавља / 121 страну / 93 слике/ 15 табела/ 3 графика/2 графика/123 референце /1 прилог/захвалница/биографија).

Дисертација садржи поглавља: Увод, Преглед литературе, Циљеви истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључак, Литература, Прилог.

Erwinia amylovora (Burrill) Winslow, узročник је бактериозне пламењаче, једне од најдеструктивнијих болести воћака и украсних биљака и једне од најштетнијих бактеријских болести гајених биљака. У Црној Гори присуство ове бактерије први пут је уочено 1993. године на стаблима крушке у општинама Беране и Андријевица, у северном делу земље, а експериментално потврђено 2003. године у узорцима јабуке из околине Никшића.

У оквиру овог истраживања извршена су проучавања бактерије *E. amylovora* у Црној Гори. Истраживање је обухватило теренски и лабораторијски рад, у периоду од 2012-2015. године. На терену је евидентирана и оцењивана појава симптома бактериозне пламењаче на осетљивим врстама, утврђен круг домаћина и распрострањеност бактерије по општинама. Приликом теренских обилазака сакупљено је преко 200 биљних узорака са симптомима болести, из којих је успешно изолована бактерија. Потврђено је да је ова бактерија широко распрострањена на читавој територији државе, посебно у воћарским регионима у северо-источним и западним, континенталним деловима земље. Присуство *E. amylovora* утврђено је на пет домаћина, међу којима су четири воћне врсте: дуња (*Cydonia oblonga*), крушка (*Pyrus communis*), јабука (*Malus domestica*) и мушмула (*Mespilus germanica*), као и једна врста из спонтане флоре: глог (*Crataegus* sp.).

Праћењем утицаја метеоролошких фактора на појаву симптома бактериозне пламењаче у климатски различитим регионима Црне Горе, уочена је њихова тесна корелација. Утврђено је да засади дуње, крушке и јабуке, као и појединачна јако заражена стабла ових воћних врста у северо-источним локалитетима (Бијело Поље и Беране) и западним деловима земље (локалитет Никшић) представљају жаришта из којих се бактерија шири на нова подручја и нове биљке домаћине. Наведени подаци указују на чињеницу да је последњих година дошло до ширења *E. amylovora* у континенталном делу земље, где је проузроковала значајније штете. Због тога ова бактерија данас представља озбиљну претњу успешном гајењу јабучастих воћака у Црној Гори, посебно имајући у виду да се површине под овим воћним врстама из године у годину повећавају.

У лабораторијским истраживањима, из прикупљених биљних узорака добијено је 60 бактеријских изолата пореклом из различитих домаћина и локалитета. Проучавани изолати испољили су изразиту униформност у погледу патогених, одгајивачких, морфолошких и биохемијско-физиолошких одлика и утврђено је да припадају врсти *E. amylovora*. Серолошке анализе (ELISA и IF тест) обухватиле су 27 одабраних сојева *E. amylovora* пореклом из дуње, крушке, јабуке и глога, из различитих локалитета у Црној Гори, код којих је потврђена хомогеност у антигеној структури.

У овом истраживању први пут су примењене молекуларне методе у проучавању *E. amylovora* у Црној Гори. Примењено је неколико молекуларних техника: Nested PCR (коришћењем два пара прајмера AJ75/AJ76, PEANT1/PEANT2), гер-PCR (коришћењем REP, ERIC и BOX прајмера) и RAPD PCR (коришћењем два рандом прајмера CUGEA-3 и CUGEA-5). Молекуларне анализе омогућиле су идентификацију и проучавање генетске структуре 18 сојева *E. amylovora* пореклом из дуње, крушке, јабуке и глога, из различитих локалитета. Добијени резултати указали су на генетску различитост проучаваних сојева из крушке у односу на сојеве из других биљака домаћина, без обзира на локалитет из којег су изоловани. Ово су прва истраживања генетске варијабилности *E. amylovora* у Црној Гори.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Увод. Дат је кратак преглед статуса и проблематике бактерије *E. amylovora* у свету и у Црној Гори. Укратко су представљена истраживања спроведена током рада на дисертацији.

Преглед литературе. Обухватио је кратак приказ пољопривредне производње у Црној Гори, са посебним освртом на воћарство чију производњу угрожава ова бактерија. Презентовани су подаци о распрострањености и значају *E. amylovora* у свету и код нас, описан круг домаћина и симптоми бактериозне пламењаче коју ова бактерија проузрокује. Описане су епидемиолошко-еколошке особине патогена (са освртом на утицај метеоролошких фактора на појаву болести), а затим и патогене, морфолошке, одгајивачке, биохемијско-физиолошке, серолошке и молекуларне одлике *E. amylovora*. Престављене су методе идентификације ове бактерије које се данас примењују у биљној бактериологији, од класичних до молекуларних метода. На овај начин, прегледом литературе презентована су објављена сазнања о овој бактерији, која су коришћена приликом постављања циљева истраживања и тумачења резултата.

Циљеви истраживања. Јасно су дефинисани на основу проучене литературе и проблематике истраживања.

Материјал и методе. Описане су методе мониторинга испитиваних локалитета и здравствених прегледа осетљивих воћних врста, врста из спонтане флоре, као и украсних биљака, у циљу утврђивања појаве, распрострањености и домаћина *E. amylovora* у Црној Гори. Дат је приказ метода коришћених у оцени штетности бактерије на јабучастим воћним врстама и праћењу утицаја метеоролошких фактора на појаву симптома болести у климатски различитим регионима. Представљене су методе сакупљања узорака, изолације бактерије и провере патогености добијених изолата. Описане су методе коришћене у проучавању морфолошких, одгајивачких и биохемијско-физиолошких особина одабраних изолата. Посебан сегмент у овом поглављу обухватио је серолошке (ELISA и IF тест) и молекуларне методе (Nested PCR, гер-PCR, RAPD PCR), примењене у циљу проучавања антигених особина и генетске структуре *E. amylovora*.

Резултати и дискусија. Резултати су приказани јасно и концизно, одговарајућим редоследом према току истраживања и коришћеним методама. Прво су дати резултати о појави, распрострањености и утврђеном кругу домаћина *E. amylovora* по истраживаним локалитетима (општинама) у Црној Гори. Дата је оцена штетности на дуњи, крушци и јабуци, по годинама и по општинама. Описани су симптоми болести на осетљивим биљкама и представљени резултати испитивања утицаја метеоролошких фактора на појаву симптома. Приказани су резултати изолације бактерије и њене патогене, морфолошке, одгајивачке и биохемијско-физиолошке особине. Дати су резултати антигених особина проучаваних изолата добијени у серолошким анализама. Представљени су резултати молекуларних анализа добијени применом неколико молекуларних техника.

У дискусији су утврђеним редоследом анализирани и коментарисани добијени резултати.

који су упоређивани са објављеним литературним подацима.

Закључак је изведен јасно и концизно, у складу са резултатима истраживања.

Литература даје јасан приказ коришћених литературних навода.

VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

RADOVI OBJAVLJENI U NAUČNIM ČASOPISIMA MEĐUNARODNOG ZNAČAJA (SCI lista) :

1. **Radunović, D.,** Gavrilović, V., Gašić, K., Paunović, M., Stojšin, V., Grahovac, M. (2017): Molecular characterization of *Erwinia amylovora* strains originated from pome fruits and indigenous plant in Montenegro, Journal of Plant Pathology, 99 (1), 197-203.- **M23**

RADOVI OBJAVLJENI U ČASOPISIMA KOJI SE NALAZE U BAZI PODATAKA, A IMAJU REDOVNU MEĐUNARODNU DISTRIBUCIJU I REZIME NA STRANOM JEZIKU:

2. **Radunović D.,** Gavrilović V., Gašić, K., Krstić M. (2015): Monitoring of *Erwinia amylovora* in Montenegro, Pesticides & Phytomedicine, Vol.30(3), 179-185. - **M24**
3. Balaž, J., Grahovac, M. **Radunović, D.,** Iličić, R., Krstić, M. (2013): The Status of *Erwinia amylovora* in the Former Yugoslav Republics over the Past Two Decades. Pesticides & Phytomedicine, Vol. 28 (1), 9-22. - **M24**

RADOVI OBJAVLJENI U DOMAĆIM ČASOPISIMA:

4. **Radunović, D.,** Gavrilović, V., Krstić, M. (2013): Bacterial characteristics of *Erwinia amylovora* strains originating from pome fruits and ornamental plants in Montenegro. *Zaštita bilja/Plant Protection (Belgrade)*, 64(1), 7-13. - **M52**

RADOVI SAOPŠTENI NA MEĐUNARODNIM NAUČNIM SKUPOVIMA:

5. **Radunović D.,** Gavrilović V., Krstić M. (2015): Influence of Meteorological Factors on the Occurrence of Fire Blight Symptoms in Different Regions of Montenegro, Proceedings of the 7th Congress on Plant Protection Society of Serbia, Belgrade, 135-137. - **M33**
6. **Radunović, D.** Gavrilović, V., Krstić, M. (2014): Influence of Meteorological Factors on the Occurrence of Fire Blight Symptoms in Different Regions of Montenegro, Proceedings of the 7th Congress on Plant Protection, Zlatibor, Serbia, 169-170. - **M33**
7. **Radunović, D.,** Gavrilović, V. (2013): Monitoring *Erwinia amylovora* u Crnoj Gori. *Zbornik rezimea radova, XII Savetovanje o zaštiti bilja (Zlatibor)* (pp 172-173). Beograd: Društvo za zaštitu bilja Srbije. - **M64**
8. Balaž, J., **Radunović, D.,** Krstić, M. (2012): Status of *Erwinia amylovora* in Montenegro. In *Proceedings of International Symposium: Current Trends in Plant Protection* (pp 373-378). Belgrade, Serbia: Institute for Plant Protection and Environment. - **M33**

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

- Фитопатогена бактерија *E. amylovora* присутна је и широко распрострањена у Црној Гори, посебно у северо-источним и западним деловима земље, у којима се гаје јабучасте воћне врсте
- Присуство бактерије утврђено је на пет домаћина, међу којима су четири воћне врсте (дуња, крушка, јабука и мушмула) и глог, као врста из спонтане флоре
- Мушмула и глог су два нова домаћина *E. amylovora* у Црној Гори
- Дуња је најугроженија воћна врста и на њој су симптоми бактериозне пламењаче најизраженији, у виду некрозе цвасти и пламењаче младара
- Глог је врста из спонтане флоре која на овом подручју представља значајан извор инокулума за ширење бактерије на јабучасто воће
- Проучавањем утицаја метеоролошких фактора на појаву симптома болести уочена је њихова тесна корелација и утврђено да се главна жаришта бактерије налазе у северо-источним (Бијело Поље и Беране) и западним (Никшић) деловима земље
- Одсуство симптома бактериозне пламењаче у централном делу земље (Подгорица и Даниловград), због неповољних услова за инфекцију и ширење бактерије, има посебан значај у избору локалитета за подизање засада јабучастог воћа
- Тест патогености је успешно изведен код свих испитиваних изолатата, вештачком инокулацијом зелених плодова крушке, шљиве и јабуке, као и хиперсензитивном реакцијом на листу дувана и мушкатле
- У проучавању морфолошких, одгајивачких и биохемијско-физиолошких особина, сви испитивани изолати показали су заједничке карактеристике, које поседује и *E. amylovora*
- Применом ELISA и IF теста проучавани изолати показали су хомогеност и идентичне антигене особине као и *E. amylovora*
- Применом Nested PCR потврђена је припадност врсти *E. amylovora*
- Обе примењене молекуларне технике, гер PCR (коришћењем REP, ERIC и BOX прајмера) и RAPD PCR (коришћењем CUGEA3 и CUGEA5 прајмера), показале су се погодним за диференцијацију сојева *E. amylovora*, јер су омогућиле раздвајање генетских профила сојева из крушке (без обзира на локалитет) у односу на све остале испитиване сојеве из дуње, јабуке и глога
- Утврђене разлике у генетској структури проучаваних сојева потврда су хетерогености популације *E. amylovora* на овом простору

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Резултати су приказани јасно и прегледно, табелама, графиконима и сликама, а тумачење резултата у складу је са научним принципима, те комисија даје позитивну оцену приказа и тумачења резултата истраживања.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.
Дисертација је написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.
2. Да ли дисертација садржи све битне елементе.
Дисертација садржи све битне елементе научног рада, од приказа владајућих

ставова у литератури о бактерији која је предмет истраживања, преко примењених метода рада, до резултата са дискусијом и закључком.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци.

С обзиром да у Црној Гори до сада нису спроведена истраживања о *Erwinia amylovora*, ова дисертација представља оригиналан допринос познавању појаве, распрострањености, круга домаћина и штетности бактерије на овом подручју. Имајући у виду да се ради о узрочнику једне од најдеструктивнијих болести на јабучастом воћу, резултати ових истраживања послужиће бољем познавању бактерије, њене епидемиологије, одржавања и ширења у природи. Подаци добијени проучавањем утицаја метеоролошких фактора на појаву болести у климатски различитим регионима Црне Горе могу послужити као добра препорука пољопривредним произвођачима при избору локалитета за подизање нових засада јабучастих воћних врста, у циљу спречавања појаве и ширења бактериозне пламењаче.

У овом истраживању, први пут у Црној Гори, примењене су серолошке и молекуларне методе у идентификацији и проучавању генетске варијабилности *E. amylovora*. Серолошке анализе потврдиле су хомогеност испитиваних изолата бактерије. Примењене молекуларне технике, гер- PCR (коришћењем REP, ERIC и BOX прајмера) и RAPD PCR (коришћењем CUGEA3 и CUGEA5 прајмера), омогућиле су раздвајање генетских профила сојева из крушке (без обзира на локалитет) у односу на све остале испитиване сојеве из дуње, јабуке и глога. У том смислу, резултати овог истраживања оригиналан су допринос познавању и проучавању генетског диверзитета и хетерогености популације фитопатогене бактерије *E. amylovora* на овом подручју.

Узимајући у обзир чињеницу да се површине под јабучастим воћем у Црној Гори из године у годину повећавају, постоји реална опасност да ова бактерија у наредном периоду оствари инфекцију великог броја биљака и проузрокује смањење броја стабала дуње, крушке и јабуке. Због тога је брза идентификација бактерије серолошким и молекуларним методама примењеним у овом истраживању веома важна, јер скраћује време потребно за детекцију патогена и омогућава правовремену примену одговарајућих мера сузбијања.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања
Недостаци нису уочени.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже да се докторска дисертација Драгане Радуновић, мастер инж., под називом „Распрострањеност, домаћини и карактеризација популације *Erwinia amylovora* у Црној Гори“, прихвати, а кандидату одобри одбрана.

НАВЕСТИ ИМЕ И ЗВАЊЕ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ
ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

др Вера Стојшин, редовни професор
Пољопривредни факултет, Нови Сад - ментор

др Вељко Гавриловић, виши научни сарадник,
Институт за заштиту биља и животну средину, Београд - ментор

др Мила Граховац, доцент
Пољопривредни факултет, Нови Сад - члан

др Ференц Баги, редовни професор,
Пољопривредни факултет, Нови Сад - члан

др Јелена Зиндовић, виши научни сарадник,
Биотехнички факултет, Подгорица – члан

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.