

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

Београд – Земун

Предмет: Извештај Комисије за оцену урађене докторске дисертације кандидата Мире Војводић, маг. инж. пољ.

На основу члана 57. Став 1. Правилника о правилима докторских студија Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 24.02.2021. године донело је одлуку бр. 32/24-3.3. да се образује Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата Мире Војводић, мастер инжењера пољопривреде, под насловом: „Диверзитет врста рода *Rhizoctonia* у Србији”. Комисија у саставу др Александра Булајић, редовни професор, др Ивана Вицо, редовни професор, др Бранкица Тановић, научни саветник, Институт за пестициде и заштиту животне средине, Београд, др Петар Митровић, виши научни сарадник, Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад и др Горан Алексић, научни саветник, Институт за заштиту биља и животну средину, Београд, подноси следећи извештај:

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација кандидата Мире Војводић, мастер инжењера, написана је на укупно 143 странице писаног текста укључујући 33 оригиналне фотографије, 7 графикана и 22 табеле, а цитирано је 322 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 осам основних поглавља, и то: Увод (страна 1), Преглед литературе (стране 2-15), Циљеви истраживања (страна 16), Материјал и методе (стране 17-40), Резултати (стране 41-99), Дискусија (стране 100-118), Закључак (стране 119-122) и Литература (стране 123-143). На крају текста налази се Биографија кандидата (страна 144), Изјава о ауторству (страна 145), Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације (страна 146) и Изјава о коришћењу (страна 147).

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Обављена истраживања потврдила су да су врсте *Rhizoctonia* веома разноврсне, да се комплекс у нашој земљи састоји од најмање 11 анастомозних и интраспецијских група (AG) које су проузроковачи уочених симптома на различитим врстама биљака. Идентификовано је присуство двоједарне *Rhizoctonia* spp. AG-A на јагоди, AG-G на

пасуљу, парадајзу и трешњи, AG-F на паприци, AG-U на јабуци и *Poa* sp. и вишеједарне *Rhizoctonia solani* AG-2-1 на паприци, AG-2-2 на шећерној репи, AG-3 на кромпиру, AG-4 HGI на мркви, паприци, купусу и уљаној репици, AG-4 HGII на јабуци, AG-6 на малини и *Waitea circinata* var. *zuae* на купусу и уљаној репици. Од идентификованих AG осам су нови патогени у Србији, или су први пут доказани на новом домаћину, док је осам комбинација AG /биљка домаћин установљено први пут у свету. Биолошка карактеризација изолата указала је на разлике у вирулентности изолата из различитих AG. Утврђен је специфичан међуоднос и различита агресивност *T. harzianum* према различитим AG *Rhizoctonia* spp., као и могућност употребе као биолошке мере сузбијања.

Увод. У уводном поглављу указано је на значај проучавања врста рода *Rhizoctonia* у Србији и свету и дати су подаци о њиховој таксономији и статусу, али и најзначајнијим домаћинима и ограниченом броју мера које су на располагању у циљу сузбијања.

Преглед литературе. Ово поглавље садржи осам потпоглавља у којима су изнети до ове дисертације доступни литературни подаци и то Опште одлике рода *Rhizoctonia*, Историјски осврт на таксономију врста рода *Rhizoctonia*, Методe идентификације врста рода *Rhizoctonia*, Класификација на основу хифалних анастомоза, Таксономија телеоморфа *Rhizoctonia* врста, Важећа класификација врста рода *Rhizoctonia*, Сузбијање болести које изазивају врсте рода *Rhizoctonia* и Проучавање врста рода *Rhizoctonia* у Србији. Овако конципиран преглед литературе представља детаљан приказ најважнијих аспеката проучавања ових значајних патогена и одличну основу за праћење и анализу добијених резултата.

Циљ истраживања. Основни циљеви ове дисертације били су одређивање таксономског места изолата из Србије на основу анастомозних упаривања, морфолошких, патогених и молекуларних особина, као и утврђивање распрострањености и преваленције већ присутних, али и нових AG *Rhizoctonia* spp. у нашој земљи. Циљ је био и да се испита вирулентност и експериментални круг домаћина добијених изолата, као и да се анализом шест генских маркера добију подаци о филогенетским и биогеографским међуодносима изолата из Србије са изолатима из осталих делова света.

Практични циљеви ове дисертације били су да се допринесе побољшаној дијагностици развојем протокола за директну специфичну детекцију појединих AG применом конвенционалне и qPCR методе као и да се унапреде мере сузбијања на еколошки прихватљив начин, односно проучи могућност изолације и примене биолошког агенса за сузбијање различитих двоједарних и вишеједарних AG *Rhizoctonia* spp.

Материјал и методе. У овом поглављу које садржи осам потпоглавља детаљно су, на следљив начин, образложене све примењене методе. У потпоглављу Преглед терена и сакупљање узорака приказан је начин сакупљања основног материјала за даља истраживања. Изолација и добијање изолата врха хифа обављено је коришћењем стандардних фитопатолошких метода (Изолација патогена и добијање изолата врха хифа), а детаљно је описан и поступак провере патогености вештачким инокулацијама сејанаца различитих биљака, као и листова и лисних петелки одређених биљака, у зависности од

породка изолата (Провера патогености). Патогени су се сматрали они изолати који су довели до развоја видљивих симптома на инокулисаним сејанцима и биљним деловима. У оквиру потпоглавља Испитивање морфолошких особина описане су методе за испитивања микроскопских и макроскопских особина одабраних изолата на PDA, кроз оцену изгледа и боје колонија, присуства и распореда склероција, као и проучавања начина гранања хифа, броја једара у младим ћелијама и одређивање присуства монилиформних ћелија. Испитивана је и појава анастомоза приликом упаривања испитиваних изолата са тестер изолатима на основу чега су изолати сврставани у одговарајуће AG, као и појава структура полног размножавања. У потпоглављу Испитивање молекуларних особина образложен је избор шест молекуларних маркера за анализе укључујући ITS регион rDNA (Nuclear ribosomal internal transcribed spacer region), LSU (Large Subunit), *tef-1 α* (Translation elongation factor 1-alpha), *rpb2* (DNA-directed RNA polymerase II subunit.), *atp6* (Mitochondrially encoded ATP synthase membrane subunit 6) и *β -tubulin* (beta tubuline). Екстракција укупних DNA обављена је помоћу комерцијалног кита DNeasy Plant Mini Kit-a, а даље су коришћене за амплификацију применом методе ланчане реакције полимеразе (Polimerase Chain Reaction, PCR). Добијени производи су секвенцирани, а молекуларна идентификација обављена је анализом хомологије нуклеотидних секвенци и поређењем са секвенцама доступним у базама података GenBank, BOLD System и Q-bank. Филогенетске анализе урађене су реконструкцијом три филогенетска стабла заснована на секвенцама ITS региона rDNA, укључујући изолате из Србије и одабране референтне изолате из GenBank базе података. У потпоглављу Развијање брзих протокола за специфичну детекцију појединих AG *Rhizoctonia* spp. наведено је како су развијене брзе методе за директну детекцију појединих AG *Rhizoctonia* spp. применом специфичних прајмера, односно qPCR за детекцију *R. solani* AG-2-2. У потпоглављу Испитивање круга домаћина и вирулентности одабраних *Rhizoctonia* spp. објашњен је поступак испитивања вирулентности, применом три различите методе, инокулацијама 14 сејанаца различитих врста биљака, односно лисних петелки јагоде и исечака стабла кромпира. У потпоглављу Испитивање међуодноса изолата *Trichoderma* spp. и одабраних изолата *Rhizoctonia* spp. објашњен је поступак изолације, идентификације и избора изолата из рода *Trichoderma* и даље испитивање утицаја на изолате *Rhizoctonia* spp. у три *in vitro* и *in vivo* експеримента.

Резултати. Резултати истраживања приказани су јасно и концизно, у седам потпоглавља уз одговарајућа текстуална објашњења, табеле, оригиналне слике и графиконе који илуструју добијене резултате. У оквиру потпоглавља Симптоми болести и изоловане *Rhizoctonia* spp. детаљно су описани уочени симптоми и документовани оригиналним фотографијама, а визуелно је процењена и учесталост болести. Објашњено је да је сакупљено је 330 узорака и добијено 177 изолата врха хифа који су сврстани у групе на основу морфолошких и молекуларних особина. Детектовано је 11 AG проузроковача трулежи корена биљака и то: двоједарне *Rhizoctonia* spp. AG-A, AG-G, AG-F AG-U, вишеједарне *R. solani* AG-2-1, AG-2-2, AG-3, AG-4 HGI, AG-4 HGII, AG-6, *Waitea circinata* var. *zeae*. Од тога осам AG су нови патогени или први пут доказани на новом домаћину у

Србији, а осам комбинација АГ /биљка домаћин установљено је први пут у свету. У оквиру потпоглавља Патогеност *Rhizoctonia* spp. на различитим биљкама приказани су резултати успешне провере патогености свих АГ и документована појава симптома, док је из некротичног ткива успешно извршена реизолација. У потпоглављу Морфолошке одлике и брзина пораста изолата *Rhizoctonia* spp. описане су морфолошке особине свих појединачних АГ детектованих у истраживањима, пре свега изглед колонија, брзина пораста, присуство и распоред склероција, као и број једара у младим хифама, начин гранања, присуство монилиформних ћелија. Одређен је анастомозни статус изолата на основу формирања анастомоза у међусобним упаривањима, као и са тестер изолатима. Појава полног стадијума није запажена ни код једног изолата. У потпоглављу Молекуларне карактеристике изолата *Rhizoctonia* spp. приказани су резултати како су одабрани изолати идентификовани и сврстани у АГ на основу анализе хомологије нуклеотидних секвенци ITS региона rDNA и поређењем са секвенцама у GenBank, BOLD System и Q-bank базама података, што је потврђено анализама секвенци LSU, *tef-1a*, *rpb2*, *atp6* и *β -tubulin*. Еволутивни међуодноси испитиваних изолата са изолатима доступним у GenBank одређени су реконструкцијом три филогенетска стабла базирана на секвенцама ITS региона rDNA, а која су обухватила двоједарне *Rhizoctonia* spp. АГ, односно вишеједарне *R. solani* АГ или вишеједарне *Waitea circinata* var. *zeae*. Три стабла испољила су топологију и раздвајање врста која одговарају усвојеној класификацији АГ *Rhizoctonia* spp., а изолати из Србије груписали су се уз представнике одговарајућих АГ. У потпоглављу Директна детекција анастомозних група *Rhizoctonia* spp. изложени су резултати развоја два протокола за директну детекцију различитих АГ применом специфичних прајмера, као и qPCR протокол за детекцију *R. solani* АГ-2-2 и документована је специфичност и осетљивост у различитим анализама. Изолати из свих АГ *Rhizoctonia* spp. испољили су различиту вирулентност и могућност заражавања сејанаца 14 различитих врста биљака, као и различиту вирулентност на лисним петелкама јагоде и исечцима стабла кромпира (Круг домаћина и вирулентност). Доказано је и постојање различите вирулентности изолата у оквиру исте АГ, указујући на постојање варијабилности популације и у погледу патогености. У потпоглављу Биолошка контрола изолатом 167-17 *Trichoderma harzianum* дати су подаци у разликама у деловању изолата 167-17 према различитим АГ како у директном контакту у култури, тако и у огледима на сејанцима пасуља и мркве. Изолат 167-17 *T. harzianum* је испољио различиту ефикасност у заштити у зависности од теста који је примењен, али и у зависности од АГ изолата који је укључен у оглед, указујући на врло сложене међуодносе билошког агенса и циљаног организма.

Дискусија. У шест потпоглавља дискутовани су, тумачени и повезивани резултати истраживања са раније спроведеним истраживањима у свету и у Србији. У потпоглављу Појава и симптоми болести изазваних изолатима *Rhizoctonia* spp. у Србији анализирани су описани симптоми и дат је осврт на значај појединих АГ, распрострањеност и штетност. У потпоглављу Патогеност испитиваних изолата *Rhizoctonia* spp. тумачени су резултати

тестова патогености, типови симптома и промена које су се јавиле на инокулисаним сејанцима, кртолама, листовима и лисним петељкама или живићима јагоде који су били у сагласности са наводима у литератури. У потпоглављу Морфолошка карактеризација и АГ упаривање испитиваних изолата *Rhizoctonia* spp. из Србије анализирани су проучене морфолошке особине испитиваних изолата, као и хифалне анастомозне реакције са тестер изолатима познатих АГ и значај и могућност примене у идентификацији. У оквиру потпоглавља Молекуларне карактеристике *Rhizoctonia* spp. и њихова примена образложени су резултати анализе секвенци испитиваних изолата, њихово међусобно поређење, као и поређење са другим секвенцама доступним у базама података што представља основу за молекуларну идентификацију. Молекуларна идентификација свих испитиваних изолата заснована је на секвенцама ITS региона rDNA, док је за одабране изолате из сваке АГ укључено још пет молекуларних маркера (LSU, *rpb2*, *tef-1a*, *atr6* и *β -tubulin*) који су са већом или мањом резолуцијом потврдили добијене резултате. Као проузроковачи трулежи корена биљака у Србији први пут су описане *Rhizoctonia* spp. АГ-G, АГ-F, АГ-U, као и *R. solani* АГ-2-1, АГ-4 HGI, АГ-4 HGII (на јабуци), АГ-6 и *W. circinata* var. *zeae*. Међу њима, појава *Rhizoctonia* spp. АГ-G на трешњи, АГ-U на *Poa* sp., *R. solani* АГ-4 HGI на мркви и паприци, АГ-4 HGII на јабуци, АГ-6 на малини, *W. circinata* var. *zeae* на купусу и уљаној репици представљају прве налазе забележене у свету. Анализирани су и резултати реконструкције филогенетских стабала, еволутивни међуодноси и позиција испитиваних изолата у односу на друге референтне изолате доступне у GenBank бази података. По први пут у Србији указано је на значајну варијабилност у оквиру појединих АГ *Rhizoctonia* spp. као и на могуће путеве ширења. Развијени су одговарајући протоколи за директну молекуларну идентификацију што представља значајан практични допринос. У потпоглављу Вирулентност и круг домаћина испитиваних изолата *Rhizoctonia* spp. упоредно се анализирају резултати који представљају први документовани увид у разлике у вирулентности између изолата различитих АГ *Rhizoctonia* spp. као и у разлике у кругу домаћина. То је од великог практичног значаја и указује на потребу идентификације до нивоа АГ пре примене мера сузбијања. У потпоглављу Могућност биолошке контроле *Rhizoctonia* spp. применом *Trichoderma harzianum* даје се увид у разлике у осетљивости различитих АГ *Rhizoctonia* spp. на деловање *T. harzianum* у огледима *in vitro* и *in vivo* и анализира потенцијал за практичну примену у сузбијању.

Закључак. У овом поглављу изведени су бројни закључци који у потпуности произилазе из спроведених истраживања. Седмогодишњим испитивањима обухваћена су 22 усева/засада и шест партија кромпира у Србији, 13 различитих врста биљака домаћина, укључујући јагоду, парадајз, паприку, трешњу, пасуљ, јабуку, ливадарку једногодишњу, шећерну репу, кромпир, мркву, уљану репицу, купус и малину. Уочени су разноврсни симптоми на различитим домаћинима, углавном у виду некрозе и трулежи корена и кореновог врата и забележена је различита учесталост болести у појединим усевима/засадима. Детектовано је 11 АГ *Rhizoctonia* spp. проузроковача трулежи корена у

Србији и проучене су патогене, морфолошке и молекуларне особине, на основу анализе шест генских региона. Уочена је изражена варијабилност у вирулентности различитих АГ према различитим биљкама домаћинима. Развијена су и два протокола за директну специфичну детекцију и идентификацију појединих АГ чиме су унапређене методе идентификације проузроковача трулежи корена. Идентификован је изолат *T. harzianum* који је испољио вирулентност према различитим АГ и документовано је деловање у експериментима *in vitro* и *in vivo*.

Литература. У дисертацији су наведене 322 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 Мире Војводић, мастер инжењера, под насловом: „Диверзитет врста рода *Rhizoctonia* 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 врстама рода *Rhizoctonia*, а допринос се огледа у расветљавању диверзитета у Србији који је углавном био недовољно истражен. Детектоване су раније присутне, али и нове АГ за Србију: четири двоједарне *Rhizoctonia* spp.: AG-A, AG-F, AG-G, AG-U и седам вишеједарних *R. solani*: AG-2-1, AG-2-2, AG-3, AG-4 HGI, AG-4 HGII и AG-6, као и *W. circinata* var. *zeae*. Као проузроковачи трулежи корена биљака у Србији први пут су описане *Rhizoctonia* spp. AG-G, AG-F, AG-U, као и *R. solani* AG-2-1, AG-4 HGI, AG-4 HGII (на јабуци), AG-6 и *W. circinata* var. *zeae*. Међу њима, појава *Rhizoctonia* spp. AG-G на трешњи, AG-U на *Poa* sp., *R. solani* AG-4 HGI на мркви и паприци, AG-4 HGII на јабуци, AG-6 на малини, *W. circinata* var. *zeae* на купусу и уљаној репици представљају прве налазе у свету.

Дате су прве информације о распрострањености, морфолошким, патогеним и молекуларним карактеристикама детектованих АГ. Развијена су два протокола за директну молекуларну детекцију и идентификацију, што је основ за постављање дијагнозе болести и предузимање одговарајућих мера сузбијања. Установљена је различита вирулентност и круг домаћина појединих АГ инокулацијама 14 врста биљака из осам фамилија, као и инокулацијама петелки јагоде и фрагмената стабла кромпира. Идентификован је изолат *Trichoderma harzianum* који је испољио различиту агресивност према појединим АГ у експериментима *in vitro* и *in vivo*. Добијени резултати показују да су врсте рода *Rhizoctonia* веома значајна и разноврсна група патогена у Србији.

Имајући у виду све изнето, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију кандидата Мире Војводић, мастер инжењера, под насловом: „Диверзитет врста рода *Rhizoctonia* 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.

Бероград-Земун

Дана 22.03.2021. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. др Александра Булајић, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет, председник
(Ужа научна област: Фитопатологија)

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

3. др Бранкица Тановић, научни саветник
Институт за пестициде и заштиту животне средине, Београд, члан
(Ужа научна дисциплина: Фитопатологија)

4. др Петар Митровић, виши научни сарадник
Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад, члан
(Ужа научна дисциплина: Фитопатологија)

5. др Горан Алексић, научни саветник
Институт за заштиту биља и животну средину, Београд, члан
(Ужа научна дисциплина: Фитопатологија)

Прилог: Рад у врхунском међународном часопису (M21) публикован од стране кандидата Мире Војводић, мастер инжењера

Vojvodić, M., Tanović, B., Mitrović, P., Vico, I., Bulajić, A. (2020): *Waitea circinata* var. *zeae* causing root rot of cabbage and oilseed rape. Plant Disease, <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-20-0942-RE> (IF 3.129).

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Београд - Земун

**Предмет: Изјава о оригиналности докторске дисертације „Диверзизет
врста рода *Rhizoctonia* у Србији”, аутора Мире Војводић**

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 „Диверзизет врста рода *Rhizoctonia* у Србији”, аутора Мире Војводић, дана 15.03.2021. године, константујем да утврђена количина подударана текста износи 14%. 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, 15.03.2021. године

Ментор

др Александра Булајић, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
