

ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

**ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ
ИДЕНТИФИКАЦИЈА ПАРАЗИТОИДА КУКУРУЗНОГ ПЛАМЕНЦА, *Ostrinia nubilalis*
(Hübner, 1796), РОДА *Trichogramma*, У ВОЈВОДИНИ**

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију 27.08.2018. Научно-наставно веће Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду 18.12.2019. Научно-наставно веће Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду (допуна састава комисије)</p> <p>2. Састав комисије са назнаком 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 Александра Игњатовић Ђупина, ванредни професор, ужа научна област Ентомологија, 13.07.2017., Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду, ментор</p> <p>Др Душан Петрић, редовни професор, ужа научна област Ентомологија, 15.11.1999., Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду, председник комисије</p> <p>Др Жељко Томановић, редовни професор, ужа научна област Морфологија, систематика и филогенија животиња, 17.03.2011., Биолошки факултет, Универзитет у Београду, члан комисије</p> <p>Др Ивана Мајић, ванредни професор, ужа научна област Фитомедицина, 31.3.2016., Факултет агробиотехничких знаости, Свеучилиште Јосипа Јурја Штросмајера у Осијеку, Хрватска, члан комисије</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Александар, Нада, Ивезић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 14.04.1983. Вуковар, Хрватска</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Технички факултет „Михајло Пупин“ Зрењанин, Универзитет у Новом Саду; Управљање техничким системима; Дипломирани инжењер за управљање техничким системима – мастер</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2014. година, Агрономија</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: н/п</p> <p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: н/п</p>
III НАСЛОВ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:
<p align="center">„Идентификација паразитоида кукурузног пламенца, <i>Ostrinia nubilalis</i> (Hübner, 1796), рода <i>Trichogramma</i>, у Војводини“</p>

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са знаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикана и сл.

Докторска дисертација кандидата дипломираног инжењера-мастера Александра Ивезића написана је на 106 страна текста и 25 страна прилога (укупно 131 страна), садржи 147 литературних извора, 6 табела, 72 слике и 4 графикана.

Текст дисертације је подељен у 7 поглавља и 5 прилога: Увод (24 странице); Циљеви истраживања и радна хипотеза (2 странице); Материјал и методе истраживања (30 страница); Резултати истраживања (28 страница); Дискусија (6 страница) Закључци (3 странице); Литература (13 страница) и Прилози (пет прилога, 25страница). Кључна документацијска информација је написана на српском и енглескомјезику и приложена је на почетку докторске дисертације. На крају дисертације приложена је биографија кандидата.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Увод:

У уводном делу дисертације кандидат концизно указује на значај производње кукуруза у Србији, а затим наводи податке о значају кукурузног пламенца (*Ostrinia nubilalis*), као најважније штеточине ове ратарске културе. У засебном потпоглављу кандидат износи актуелна научна сазнања о кукурузном пламенцу, односно о распрострањености, морфологији, биологији, штетности, прогнози појаве и сузбијању кукурузног пламенца, представља актуелне и расположиве методе сузбијања ове штеточине и истиче предности примене биолошких мера заштите кукуруза. У засебном потпоглављу кандидат обрађује паразитоиде рода *Trichogramma*, односно на основу бројних литературних извора систематично обрађује примену *Trichogramma* у биолошкој борби против штетних инсеката (укључујући кукурузног пламенца), систематско место и диверзитет фауне паразитских осика овог рода, биологију и животни циклус, те проблематику везану за идентификацију *Trichogramma* spp. Кандидат указује на могућности примене *Trichogramma*, као најзначајнијих паразитоида кукурузног пламенца у биолошкој борби против ове штеточине, образлаже неопходност прецизне и поуздане идентификације осика овог рода и указује на расположиве морфолошке и молекуларне технике за њихову детерминацију.

Циљеви истраживања и радна хипотеза

Кандидат јасно и концизно износи циљеве истраживања, уз образложење о разлозима постављања истих. Имајући у виду да је фауна паразитоида рода *Trichogramma* у Србији недовољно истражена, основни циљ истраживања је био усмерен на утврђивање присутних врста на подручју Војводине. Додатно, утврђивање интраспецијске генетичке варијабилности, као и утврђивање присуства ендосимбионтских бактерија рода *Wolbachia*, за које је познато да код осика индукују телитокну партеногенезу, су такође представљали циљ истраживања. У складу са постављеним циљевима истраживања кандидат је навео радне хипотезе.

Материјал и методе истраживања:

У поглављу материјал и методе рада кандидат детаљно описује методе које су примењене у сезонском мониторингу кукурузног пламенца у току 2016. и 2017. године, узорковању паразитираних јајних легала, одгајивању и конзервацији *Trichogramma* осика. Примењене методе за морфолошку и молекуларну идентификацију узоркованих *Trichogramma* су јасно представљене, уз прецизно навођење процедура извођења молекуларне идентификације. Кандидат такође детаљно описује примењене молекуларне методе за одређивање генетичке варијабилности и представља молекуларне методе за детекцију ендосимбионата у узоркованим јединкама.

Резултати истраживања:

У поглављу су изложени и детаљно анализирани сви остварени резултати истраживања. Резултати истраживања су приказани прегледно, дати су хронолошки по фазама истраживања у засебним подпоглављима која обухватају: резултате двогодишњег мониторинга кукурузног пламенца, морфолошку и молекуларну идентификацију одгајених јединки паразитоида, регистроване стопе паразитираних јајних легала, генетичку варијабилност регистрованих врста паразитоида, утврђивање присуства ендосимбионата рода *Wolbachia*, као резултате дизајнирања и примене специфичних прајмера за идентификоване врсте *Trichogramma*.

Резултати истраживања су текстуално јасно изложени и обрађени, графички и табеларно прегледно приказани и правилно интерпретирани и пропраћени бројним оригиналним фотографијама, које доприносе бољем разумевању постигнутих резултата. Резултати истраживања су у потпуном складу са циљевима рада и представљају оригинални научни допринос.

Дискусија

У поглављу дискусија кандидат тумачи добијене резултате истраживања и упоређује их са ставовима и резултатима осталих аутора који се баве сличном проблематиком. Кандидат је прецизно образложио и продискутовао сваки појединачни део истраживања.

Закључци:

У поглављу су сажето и концизно изнети најважнији закључци који су проистекли из добијених резултата истраживања, на основу којих аутор на крају истиче значај и могућност практичне примене аутохтоних паразитоида рода *Trichogramma* у биолошкој борби и даје даје смернице за даља истраживања која су неопходна у циљу креирања адекватних, економски и еколошки оправданих стратегија сузбијања кукурузног пламенца.

Литература:

У литератури је наведено укупно 147 литературна извора, који су у тексту сви правилно цитирани и наведени у правилном контексту, што указује на студиозност, одговоран приступ раду на изради докторске дисертације и високи квалитет кандидата.

Прилози:

У поглављу је дато пет прилога који се односе на резултате сезонског мониторинга адулта кукурузног пламенца (бројност по данима) у 2016. и 2017. години, утврђене секвенце ITS2, COI и *wsp* гена тестираних јединки *Trichogramma*.

На крају рада је дата биографија кандидата

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

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у часопису са ISI листе односно са листе министарства надлежног за науку када су у питању друштвено-хуманистичке науке или радове који могу заменити овај услов до 01. јануара 2012. године. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

1. **Ivezić A**, Stouthamer R, Rugman-Jones P, Ignjatović Ђupina A, (2018). Molecular identification of *Trichogramma* egg parasitoids of *Ostrinia nubilalis* in the north eastern Serbia. Archives of Biological Sciences. 1-13 <https://doi.org/10.2298/ABS171103002I> M23=3
2. Lazarević M, Stanković S, Veselinović T, Dejanović M, **Ivezić A**, (2016): Pojava i razvoj kupusnog moljca (*Plutella xylostella* Linnaeus) i model zaštite kupusa u našim agro-ekološkim uslovima. Biljni lekar, 44(4): 309-317. M52=1.5
3. Jovanov P, Sakać M, Kos J, Šarić B, **Ivezić A**, Nedeljković N, Pojić M. Monitoring of neonicotinoid residues in honey samples from autonomous province of Vojvodina. III International Congress "Food Technology, Quality and Safety". ISBN 978-86-7994-050-6, Proceedings, 397-402, Novi Sad, Serbia, 25-27 October, 2016. M33=1
4. **Ivezić A**, Jezerkić B, (2019). *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae), најважнији природни непријатељ штетних инсеката у засадима парадајза. Biljni lekar, 47(5): 3 06-316. M52=1.5

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу резултата спроведног истраживања кандидат је дошао до следећих закључака:

- Резултати двогодишњег мониторинга кукурузног пламенца, који у стадијуму јајета представља домаћина паразитских осица рода *Trichogramma*, показали су да ова значајна штеточина кукуруза продукује 3 генерације адулта у току сезоне, од којих је друга генерација најбројнија.

- Иако се у току 2016. и 2017. године бројност популације пламенца, праћена светлосним клопкама на два локалитета, значајно разликовала (4,4 пута већа укупна бројност ухваћених јединки у Кикинди, односно 12,2 пута већа бројност у Банатској Тополи, у 2016. у односу на 2017. годину), на праћеним локалитетима је у обе године регистрован је значајан проценат паразитираних јајних легала пламенца. Просечна стопа паразитираности јајних легала на праћеним локалитетима је у 2016. години износила 64,67%, док је у 2017. години она износила 38,84%. У 2017. години забележена је знатно мања бројност кукурузног пламенца на светлосним клопкама, али и нижа стопа паразитизма, што указује на високу прилагођеност и преферентност *Trichogramma* spp. у односу на кукурузног пламенца као домаћина.

- У 2016. години, амплификацијом и секвенцирањем ITS2 региона rDNK извршена је молекуларна идентификација јединки узоркованих на 5 различитих локалитета на територији општине Кикинда. Од укупног броја тестираних јединки, 96,15% јединки је идентификовано као *T. brassicae* при чему је ова врста регистрована на свим праћеним локалитетима (Кинђа, Станкић, Банатска Топола, Наково и Банатско Велико Село). Друга идентификована врста, *T. evanescens* је детектована у само једном паразитираном јајном леглу пламенца са локалитета Станкић. У току 2016. године *T. brassicae* се показала као доминантна врста која паразитира јаја кукурузног пламенца.

- Анализом резултата секвенционирања запажена је одређена разлика у редоследу базних

парова на ITS2 региону код врста *T. brassicae* и *T. evanescens*. На основу утврђене разлике у секвенцама нуклеотида на ITS2 региону дизајнирани су специфични прајмери за *T. brassicae* и *T. evanescens*. Дизајнирањем специфичних прајмера за *T. brassicae* и *T. evanescens* омогућена је примена Multiplex PCR методе, која смањује комплексност молекуларне идентификације *Trichogramma* паразитоида, јер не захтева секвенцирање добијених ампликона за детерминисање ове две врсте.

- Одређивањем генетичке варијабилности амплификацијом и секвенцирањем COI гена добијене су информације о биодиверзитету *Trichogramma* spp. узоркованих на територији општине Кикинда. Међу тестираним јединкама утврђено је 5 различитих хаплотипова, од којих су четири хаплотипа идентификована као *T. brassicae* (TbSERB-1, TbSERB-2, TbSERB-3, TbSERB-4), док је један хаплотип идентификован као *T. evanescens* (TeSERB-5). Међу идентификованих хаплотиповима TbSERB-1 је најзаступљенији, јер више од половине тестираних јединки припада овом хаплотипу. На основу добијених резултата може се закључити да хаплотип TbSERB-1, као најзаступљенији међу тестираним узорцима, карактерише висока стопа паразитизма у природним условима, те се стога може извојити као адекватан кандидат за употребу у биолошкој контроли кукурузног пламенца.

- Молекуларним методама идентификовано је присуство *Wolbachia* бактерије у узорцима прикупљеним у 2016. години на територији општине Кикинда. Амплификацијом 16S бактеријског гена, присуство бактерије регистровано је само код јединки које припадају TbSERB-1 хаплотипу и то код 35,71% тестираних јединки. Амплификацијом и секвенцирањем *wsp* бактеријског гена, специфичног за *T. brassicae* регистровано је присуство бактерије у 14,28% тестираних јединки које припадају хаплотипу TbSERB-1.

- Коришћењем специфичних прајмера за *T. brassicae* и *T. evanescens* тестирана је примењивост Multiplex PCR методе за идентификацију јединки узоркованих у 2017. години на 12 различитих локалитета у Војводини. Сви тестирани узорци у 2017. години су резултирали PCR продуктом, што указује да осим наведене две врсте *Trichogramma* других врста паразитоида *O. nubilalis* на територији Војводине највероватније нема или су оне ретке. Врста *T. brassicae* је идентификована у 97,47% тестираних узорака и у већини истраживаних локалитета у Војводини је представљала једину врсту која паразитира јаја *O. nubilalis*. Врста *T. evanescens* је, као и у 2016. години, идентификована на подручју општине Кикинда. У обе године истраживања *T. evanescens* је представљала ретку врсту, али је у 2017. години ипак детектована у два локалитета (Мокрин и Наково) и то у оба случаја се развила из јаја кукурузног пламенца положених од стране женки друге генерације.

- Идентификацијом узорака из 2017. године са локалитета Наково и Мокрин из истог паразитираног јајног легла кукурузног пламенца регистроване су обе *Trichogramma* врсте (*T. brassicae* и *T. evanescens*), што указује да женке ових врста приликом одабира јајног легла у које ће полагати јаја нису одбијене од стране друге, конкурентне врсте, односно да могу полагати чак и у јајна легла домаћина где су поједина јаја већ паразитирана од стране друге врсте.

- Висока стопа паразитираности јајних легала кукурузног пламенца аутохтоним врстама осица *Trichogramma*, која је регистрована у природним условима током овог истраживања на територији Војводине у току 2016. и 2017. године, нарочито када је у питању врста *T. brassicae*, показује да присутне врсте и форме (хаплотипови) представљају добре кандидате за даља истраживања могућности њихове практичне примене у комерцијалном узгоју и интензивној имплементацији у биолошкој борби против кукурузног пламенца на територији Војводине, Србије и земаља у окружењу.

На крају, кандидат истиче да је за дефинисање адекватних и економски оправданих стратегија практичне примене аутохтоних врста *Trichogramma* у биолошкој борби, поред избора одговарајуће врсте и форме, те изналажења адекватних техника њихове ефикасне производње у контролисаним условима, свакако је неопходно претходно испитати бројне биолошке карактеристике као што су: виталност јединки, капацитет лета и дисперзија, фертилитет, преживљавање у току развића, однос полова у популацијама и с тим у вези утицај ендосимбионтских бактерија рода *Wolbachia*, затим дужину живота имага, способност проналаска и преферентност при избору домаћина, укључујући и остале врсте инсеката домаћина и компетитивност у односу на остале врсте паразитоида. Стога кандидат констатује да је спровођење додатних опсежних истраживања неопходно како би се у потпуности одредила компетентност и погодност практичне примене аутохтоних врста осица рода *Trichogramma* у биолошкој борби против кукурузног пламенца на територији Србије и ширем окружењу.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Остварени резултати су презентовани у складу са наведеним циљевима истраживања. Резултати

истраживања су адекватно приказани и правилно протумачени, текстуално, табеларно и графички и пропраћени су бројним оригиналним фотографијама које представљају саставни део резултата истраживања. Резултати мониторинга кукурузног пламенца, морфолошке и молекуларне идентификације паразитоида рода *Trichogramma*, одгајених из паразитираних јајних легала кукурузног пламенца са подручја Војводине, као и резултати утврђивања ендосимбионтских бактерија рода *Wolbachia*, изложени су на јасан и прегледан начин. Кандидат је своје резултате истраживања интерпретирао систематично, логички смислено и доследно. Остварени резултати истраживања су правилно дискутовани и упоређени са резултатима других аутора који се односе на обрађивану проблематику. Сходно написаном, начин приказа и тумачења резултата оцењујемо позитивном оценом.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

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 оригиналног научног рада

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Дисертација представља оригиналан допринос науци јер су први пут на подручју Војводине поузданим молекуларним методама идентификоване аутохтоне врсте паразитоида рода *Trichogramma*: *T. brassicae* и *T. evanescens*, за које се утврдило да у природним условима поседују капацитет за остваривање високе стопе паразитизма јајних легала кукурузног пламенца. На основу утврђене разлике у секвенцама нуклеотида на ITS2 региону, за ове две врсте су дизајнирани специфични прајмери, који се успешно и једноставно могу користити у молекуларној идентификацији применом Multiplex PCR методе без предходног секвенцирања ампликона.

Поред идентификације до нивоа врсте, методом амплификације и секвенцирања COI гена, у аутохтоним популацијама је утврђено постојање четири хаплотипа *T. brassicae* и једног хаплотипа *T. evanescens*, међу којима је доминантан хаплотип *T. brassicae* TbSERB-1. Овај хаплотип карактерише висока стопа паразитизма у односу на домаћина кукурузног пламенца, те се може издвојити као адекватан кандидат за контролисану примену у биолошкој борби против ове најзначајније штеточине кукуруза. Поред тога, амплификацијом и секвенцирањем *wsp* бактеријског гена специфичног за *T. brassicae* у хаплотипу TbSERB-1 је доказано је присуство ендосимбионске бактерије рода *Wolbachia*, за коју је познато да индукује телитокну партеногенезу код паразитоида рода *Trichogramma*, што се додатно може сматрати повољним аспектом у правцу постизања високе ефикасности у биолошкој борби против кукурузног пламенца.

Поред изузетно вредних постигнутих научних резултата, ова докторска дисертација представља добру научну основу за даља истраживања фауне паразитоида рода *Trichogramma* у Србији, као и за наредна научна истраживања која би требала бити усмерена у правцу изналажења могућности гајења и примене аутохтоних врста *Trichogramma*, као значајног природног ресурса, у плански вођеним програмима биолошке борбе против кукурузног пламенца и других штетних Lepidoptera на простору Србије.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Дисертација нема недостатака

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

да се докторска дисертација кандидата дипл. инж. мастера Александра Ивезића под називом

**„Идентификација паразитоида кукурузног пламенца, *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796),
рода *Trichogramma*, у Војводини“ прихвати, а кандидату дипл. инж.-мастеру Александру
Ивезићу одобри одбрана**

НАВЕСТИ ИМЕ И ЗВАЊЕ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ
ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Др Александра Игњатовић Ћупина, ванредни професор,
ужа научна област Ентомологија,
Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду - ментор

Др Душан Петрић, редовни професор,
ужа научна област Ентомологија,
Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду - председник комисије

Др Жељко Томановић, редовни професор,
ужа научна област Морфологија, систематика и филогенија животиња,
Биолошки факултет, Универзитет у Београду - члан комисије

Др Ивана Мајић, ванредни професор,
ужа научна област Фитомедицина,
Факултет агробиотехничких знаности, Свеучилиште Јосипа Јурја
Штросмајера у Осијеку, Хрватска - члан комисије

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.