

Биолошки факултет  
Број захтева: 33/107-1  
Датум: 15.5.2015.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ  
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

### ЗАХТЕВ

#### за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији за кандидата на докторским студијама

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11-пречишћени текст, 167/12, 172/13 и 178/14), дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији:

КАНДИДАТ: **мр Билјана Б. Атанасова**

студент докторских студија на студијском програму Биологија, Морфологија, систематика и филогенија животиња

пријавио је докторску дисертацију под називом:

**„Фауна цикада (Hemiptera: Auchenorrhyncha) у виноградима Македоније и њихова улога у епидемиологији 'Candidatus Phytoplasma solani'“.**

из научне области: Биолошке науке.

Универзитет је дана 03.07.2014. године, својим актом под бр. 02 Број: 61206-3063/4-14 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

**„Фауна цикада (Hemiptera: Auchenorrhyncha) у виноградима Македоније и њихова улога у епидемиологији 'Candidatus Phytoplasma solani'“.**

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 15.12.2014. год, одлуком Факултета под бр. 15/772-15.12.2014. год. у саставу:

	Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1.	др Жељко Томановић	редовни професор	морфологија, систематика и филогенија животиња	Универзитет у Београду- Биолошки факултет
2.	др Татјана Цврковић	научни сарадник	ентомологија	Институт за заштиту биља и животну средину
3.	др Иво Тошевић	научни саветник	ентомологија	Институт за заштиту биља и животну средину

**Напомена:** уколико је члан Комисије у пензији навести датум пензионисања.

**Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 15. маја 2015. године.**

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

**Прилог: 1. Реферат комисије са предлогом.**

**2. Акт Наставно-научног већа факултета о усвајању реферата**

**3. Примедбе дате у току стављања реферата на увид у јавности, уколико је таквих примедби било.**

**4. Електронска верзија.**



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ  
БИОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Студентски трг 16  
11000 БЕОГРАД  
Република СРБИЈА  
Тел: +381 11 2186 635  
Факс: +381 11 2638 500  
Е-пошта: dekanat@bio.bg.ac.rs

33/107-15.5.2015.

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 59. став 1. тачка 1. Статута Универзитета у Београду-Биолошког факултета, Наставно-научно веће Факултета, на VII редовној седници одржаној 15.5.2015. године, донело је

**О Д Л У К У**

Прихвата се Извештај Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације кандидата:

**мр Билјане Атанасове, под називом:**

**„Фауна цикада (Hemiptera: Auchenorrhyncha) у виноградима Македоније и њихова улога у епидемиологији 'Candidatus Phytoplasma solani'“.**

Универзитет је дана 03.07.2014. године. својим актом под бр. 02 Број: 61206-3063/4-14 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације кандидата.

**Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:**

**Б1. Радови у часописима међународног значаја:**

**Atanasova B.**, Jakovljević M., Spasov D., Jović J., Mitrović M., Toševski I., Cvrković T. (2015): The molecular epidemiology of *Bois noir* grapevine yellows caused by 'Candidatus Phytoplasma solani' in the Republic of Macedonia. European Journal of Plant Pathology. DOI: 10.1007/s10658-015-0649-0. **M21**

**Atanasova B.**, Spasov D., Jakovljević M., Jović J., Krstić O., Mitrović M., Cvrković T. (2014): First report of alder yellows phytoplasma associated with common alder (*Alnus glutinosa*) in the Republic of Macedonia. Plant disease, 98(9), 1268 - 1268. **M21/2**

Декан Биолошког факултета

Доставити:

- Универзитету у Београду,
- докторанту,
- Стручној служби Факултета.

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

## НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На III редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 15.12.2014. године, прихваћен је извештај ментора др Жељка Томановића и др Татјане Цврковић о урађеној докторској дисертацији мр Билјане Атанасове, асистента, Пољопривредног факултета, Универзитета „Гоце Делчев“ – Штип у Македонији, под насловом **”Фауна цикада (Hemiptera: Auchenorrhyncha) у виноградима Македоније и њихова улога у епидемиологији ‘Candidatus Phytoplasma solani’“** и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу др Жељко Томановић, редовни професор, Универзитет у Београду - Биолошки факултет, др Татјана Цврковић, научни сарадник, Институт за заштиту биља и животну средину, Београд и др Иво Тошевски, научни саветник, Институт за заштиту биља и животну средину, Београд.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Већу подноси следећи

### ИЗВЕШТАЈ

#### ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација мр Билјане Атанасове написана је на 89 страна које су подељене у поглавља: Увод (16 страна), Циљ рада (1 страна), Материјал и методе (11 страна), Резултати (31 страна), Дискусија (10 страна), Закључци (5 страна), Литература (15 страна). Рад садржи резиме на српском и енглеском језику, 8 слика, 11 графикана и 8 табела (1 табелу у Материјалу и методама, 8 слика, 11 графикана и 7 табела у Резултатима), 139 библиографских јединица као и биографију аутора.

## АНАЛИЗА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

**Увод** дисертације почиње општим одељком о значају гајења винове лозе у Македонији и ширењу фитоплазматичних обољења на виновој лози у Европи. Ово поглавље приказано је у три потпоглавља у којима су на основу бројних радова обрађене морфолошке и биолошке карактеристике цикада и њихова истраженост у свету и у Македонији, као и њихова улога у епидемиологији фитоплазматичних обољења винове лозе. Детаљно је приказана улога коровских биљака присутних у винограду и на утрини око винограда у епидемиологији столбур фитоплазме, обзиром да је најзначајнији вектор столбур фитоплазме *Hyalesthes obsoletus*, полифагна врста чије се ларве хране на корену коровских биљака са којег усвајају фитоплазму. Такође, обрађена је идентификација, молекуларна карактеризација и филогенија фитоплазми, са посебним освртом на коришћење различитих конзервативних и варијабилних гена за одређивање група и подгрупа фитоплазми. Објашњен је значај коришћења 16S rRNA гена у класификацији фитоплазми, као универзалног филогенетског маркера, који поседује, како конзервативне тако и довољно варијабилне генске регионе. Поред тога приказан је и значај других гена у проучавању епидемиологије столбур фитоплазме као што су: високо конзервативни *tuf* ген, који кодира фактор елонгације (EF-Tu) и два столбур специфична гена који имају већу варијабилност и кодирају претпостављене мембранске протеине одговорне за препознавање и интеракцију са домаћином, *vmp1* и *stamp* ген.

У поглављу **Циљ** рада наглашен је значај утврђивања квалитативног и квантитативног састава цикада у виноградима Македоније као и њихова векторска улогу у преношењу VN фитоплазме. Полазећи од чињенице да је у виноградима Македоније утврђено присуство столбур фитоплазме и претпоставке да су неке цикаде из аутохтоне фауне виноградарских подручја вектори ове болести, а коровске биљке резервоари фитоплазме, циљ истраживања је био да се проучи диверзитет цикада на виновој лози, утврди присуство VN фитоплазме у виновој лози, коровским биљкама присутним у виноградима и непосредној близини винограда и у цикадама, као и да се утврди улога цикада у епидемиологији '*Candidatus Phytoplasma solani*' у виноградима Македоније.

Поглавље **Материјал и методе** подељено је на пет потпоглавља у којима су приказане методе истраживања диверзитета цикада и молекуларне методе утврђивања присуства и карактеризације фитоплазми у виновој лози, цикадама и коровским биљкама. У циљу квалитативне и квантитативне анализе цикада присутних у виноградима и идентификације потенцијалних вектора столбур фитоплазме, инсекти су сакупљани од почетка маја до почетка септембра, у интервалима од 15 дана. Диверзитет фауне цикада истраживан је у пет репрезентативних винограда Струмичког региона у којима је претходно утврђен висок проценат биљака заражених столбур фитоплазмом. Сакупљање цикада вршено је ентомолошким мрежама и усним аспираторима. Сакупљени инсекти чувани су у фрижидеру у пластичним тубицама са 96% етанолом, на температури од 4 до 8 °C. Идентификација цикада вршена је на основу морфолошких карактеристика и грађе гениталног апарата мужјака, уз помоћ кључева за детерминацију (Holzinger et al., 2003; Biedermann & Niedringhaus, 2004). У оквиру молекуларних метода приказана је екстракција ДНК из инсеката и биљака, утврђивање присуства фитоплазми PCR/RFLP анализом 16S rRNA гена у најбројнијим врстама цикада, утврђивање присуства '*Candidatus Phytoplasma solani*' у биљкама и инсектима умножавањем *Sto11* региона геномске ДНК, као и молекуларна карактеризација изолата столбур фитоплазме на три генска региона *tuf*, *vmp1* и *stamp* гена.

У оквиру молекуларних метода описане су и методе пречишћавања амплификованих узорака и секвенционирања, као и обраде података. За поравнање секвенци и њихово поређење са референтним секвенцама извршено је помоћу CLUSTAL W програма интегрисаног унутар MEGA5. За филогенетске анализе, у циљу добијања што целовитијих резултата, коришћена је метода максималне парсимоније спроведена у RAUP\* програму и Monte Carlo метода на бази Марковљевих ланаца (MCMC) спроведена у програму MrBayes.

У поглављу **Резултати** кандидат је приказао резултате на јасан и прегледан начин. Анализа диверзитета цикада заснована је на 1263 сакупљене јединке током двогодишњих истраживања, при чему је детерминисано 27 врста из 6 фамилија. Највећи број врста (21) је из фамилије Cicadellidae, 2 врсте припадају фамилији Cixiidae и по један представник је из фамилија Aphrophoridae, Delphacidae, Dictyopharidae и Issidae. Најзаступљенија врста у свих пет локалитета била је *Psammotettix alienus* (27,5%), затим *Artianus manderstjernii* (25,7%) и *Hyalesthes obsoletus* (18,7%). Мања бројност утврђена је код врста *Euscelis incisus* (8,9%), *Dictyophara europaea* (2,9%), *Cicadella viridis* (1,8%), *Doratura impudica* (1,5%), *Anaceratagallia ribauti* (1,3%). Врсте *Philaenus spumarius* и *Aphrodes makarovi* биле су заступљене са 1%, док су остале врсте имале стопу заступљености мању од 1%. Динамика популације за најзаступљеније врсте приказана је графиконима. У популацијама цикада са различитих локалитета утврђено је присуство фитоплазми у 6 врста цикада: *H. obsoletus*, *D. europaea*, *E. incisus*, *P. alienus*, *A. ribauti* и *A. manderstjernii*, док је присуство столбур фитоплазме утврђено у 3 врсте: *H. obsoletus*, *D. europaea* и *A. manderstjernii*. Анализом биљака утврђено је присуство столбур фитоплазме у свим биљкама винове лозе са симптомима, као и у две најзаступљеније коровске врсте: попонцу (*Convolvulus arvensis*) и коприви (*Urtica dioica*), које нису испољавале симптоме карактеристичне за инфекцију фитоплазмама. На основу молекуларне карактеризације и филогенетских анализа потврђено је присуство две велике филогенетске групе: прве која је у асоцијацији са попонцем и друге која је у асоцијацији са копривом. Свеобухватном карактеризацијом на основу *tuf/vmp1/stamp* гена утврђено је присуство 12 генотипова столбур фитоплазме чиме је указано на информативност ова три гена и на значај њиховог коришћења у епидемиолошким истраживањима столбур фитоплазме.

У Поглављу **Дискусија** прво се тумаче резултати квалитативне и квантитативне анализе цикада у виноградима Македоније, као и присуство фитоплазми у њима. Посебно се истиче значај врсте *Hyalesthes obsoletus* као главног вектора 'Candidatus Phytoplasma solani', која је у овим истраживањима регистрована у изразито великом броју и у којој је детектовано присуство 9 генотипова столбур фитоплазме. На основу добијених резултата молекуларних анализа, направљено је поређење са генотиповима столбур фитоплазме присутним у изолатима *Hyalesthes obsoletus* из других земаља у Европи. Продискутовано је и присуство столбур фитоплазме у врстама *Dictyophara europaea* и *Artianus manderstjernii* за које се претпоставља да немају значајну улогу у епидемиологији 'Ca. Phytoplasma solani'. Јасно је истакнут значај две коровске врсте *Convolvulus arvensis* и *Urtica dioica*, које представљају извор инокулума столбур фитоплазме и изразито су заступљене у виноградима Македоније. С обзиром да су обе врсте домаћини вектора *H. obsoletus*, детаљно се дискутује значај постојања различитих епидемиолошких циклуса повезаних са ове две врсте. Посебно се истиче значај даљих истраживања која ће бити усмерена на раздвајање *H. obsoletus* у односу на биљку домаћина међу македонским популацијама вектора, а тиме и постављање одговарајућих стратегија за искорењивање обољења.

У поглављу **Закључци** кандидат износи најважније закључке до којих се може доћи на основу истраживања диверзитета цикада у виноградима Македоније зараженим столбур фитоплазмом. Истиче се бројност и заступљеност врста присутних у виноградима и њихова припадност различитима фамилијама подреда Auchenorrhyncha, као и присуство фитолазми у анализираним врстама. Даје се сажет приказ присуства врста на различитим локалитетима, као и присуства 'Ca. Phytoplasma solani' у јединкама анализираних врста. Такође се даје преглед генотипова столбур фитоплазме присутне у биљкама винове лозе и коровским биљкама и њихово поређење са референтним изолатима. Молекуларном карактеризацијом на основу *stamp* гена закључује се да је идентификовано укупно 11 генотипова столбур фитоплазме, од којих је шест идентично са референтним изолатима, док је пет генотипова први пут утврђено у овим истраживањима. На основу добијених резултата *tuf/vmp1/stamp* свеобухватне карактеризације утврђено је присуство 12 генотипова столбур фитоплазме међу свим изолатима и указано на значај коришћења ових гена у епидемиолошким истраживањима 'Ca. Phytoplasma solani'.

#### **Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:**

##### **Б1. Радови у часописима међународног значаја**

1. **Atanasova B.**, Jakovljević M., Spasov D., Jović J., Mitrović M., Toševski I., **M21**  
Cvrković T. (2015): The molecular epidemiology of *Bois noir* grapevine yellows caused by 'Candidatus Phytoplasma solani' in the Republic of Macedonia. European Journal of Plant Pathology. DOI: 10.1007/s10658-015-0649-0.
2. **Atanasova B.**, Spasov D., Jakovljević M., Jović J., Krstić O., Mitrović M., **M21/2**  
Cvrković T. (2014): First report of alder yellows phytoplasma associated with common alder (*Alnus glutinosa*) in the Republic of Macedonia. Plant disease, 98(9), 1268 - 1268.

##### **Б2. Радови у часописима домаћег значаја**

##### **Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја**

1. Spasov Dusan, **Atanasova Biljana** (2010): Integrated production of pepper in **M34**  
Republic of Macedonia. 1th International congress: Sustainability of production, processing and offer of food, Sentjur 7<sup>th</sup> – 8<sup>th</sup> October, Slovenia: 1 – 8.
2. **Biljana Atanasova**, Dusan Spasov, Dragica Spasova (2010): Qualitative and **M34**  
quantitative analysis of cicadas (Homoptera: Auchenorrhyncha) at grapevine in region of Kavadarci, Republic of Macedonia. 20th International Scientific Conference 3th - 4th June 2010, 109-114, Stara Zagora, Volume I Agriculture

science, Plants studies 109-114, ISBN 9 789549 329469, Bulgaria.

3. D. Spasov, Dragica Spasova, **Biljana Atanasova**, M. Ilievski, Cvetanka Arsova **M34**  
(2010): Insect pests at seed wheat in Republic of Macedonia. XV Savetovanje o biotehnologiji, Cacak, 26 – 27 Mart 2010 god. Vol. 15 (16): 179 – 182.
4. D. Spasov, Dragica Spasova, M. Ilievski, Biljana Atanasova (2009): The effect of temperature on appearance of tomato russet mite (*Aculops lycopersici* M.) on tomato and the damages that causes. International Science Conference, “Economic and Society development on the Base of Knowledge” 4<sup>th</sup> – 5<sup>th</sup> June 2009 – Stara Zagora, Bulgaria, Volume I, Agricultural science. Plant studies: 231 – 235. **M34**

Б4. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја



## МИШЉЕЊЕ И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

Комисија сматра да је докторска дисертација мр Билјане Атанасове, под насловом: ” **Фауна цикада (Hemiptera: Auchenorrhyncha) у виноградима Македоније и њихова улога у епидемиологији 'Candidatus Phytoplasma solani'**“ добро конципирана и да је проблем епидемиологије фитоплазми у различитим биљним културама и улоге цикада у епидемиолошком циклусу веома актуелан последњих година.

Комисија сматра да докторска дисертација мр Билјане Атанасове, представља значајан допринос познавању диверзитета фауне цикада у виноградима Македоније, њиховог односа са виновом лозом и коровским биљкама и утицаја на епидемиологију 'Candidatus Phytoplasma solani'. Осим фундаменталног значаја, истраживања имају и примењени значај, јер ће резултати добијени овим истраживањима омогућити заустављање и спречавање ширења овог обољења.

На основу изложеног комисија предлаже Наставно – научном већу Биолошког факултета да прихвати овај Извештај и одобри јавну одбрану ове докторске дисертације.

### КОМИСИЈА:

---

др Жељко Томановић, редовни професор,  
Универзитет у Београду- Биолошки факултет

---

др Татјана Цврковић, научни сарадник,  
Институт за заштиту биља и животну средину

---

др Иво Тошевски, научни саветник,  
Институт за заштиту биља и животну средину

У Београду, 14. 04. 2015. године.