

3
4
5 **ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

6
7 **I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ:**

8
9 **1. Датум и назив органа који је именовео комисију:**

10 Наставно-научно веће Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду на
11 159. седници одржаној 21.10.2015. године.

12
13 **2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива**
14 **уже научне области за коју је изабран у звање, годином избора у звање и назив**
15 **факултета, установе у којој је члан комисије запослен:**

16 1. Др Зоран Кулишић, редовни професор, Паразитологија, 2002, Факултет ветеринарске
17 медицине Универзитета у Београду;

18 2. Др Жељко Радуловић, научни сарадник, Медицинска ентомологија, 2010, Институт за
19 медицинска истраживања Универзитета у Београду;

20 3. Др Јевросима Стевановић, ванредни професор, Биологија, 2015, Факултет
21 ветеринарске медицине Универзитета у Београду;

22 4. Др Соња Радојичић, редовни професор, Епизоотиологија, заразне болести животиња
23 и болести пчела и свилопреља, 2011, Факултет ветеринарске медицине Универзитета у
24 Београду;

25 5. Др Зоран Станимировић, редовни професор, Биологија, 2007, Факултет ветеринарске
26 медицине Универзитета у Београду.

27
28 **II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:**

29
30 **1. Име, име једног родитеља, презиме:** Бојан, Сашимир, Гајић

31
32 **2. Датум рођења, општина, Република:** 15.05.1983. Крагујевац, Србија

33
34 **3. Датум одбране, место и назив магистарске тезе*:**

35
36 **4. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука*:**

37
38 **III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:** Испитивање генетичке варијабилности и
39 корелације хаплотипова медоносне пчеле *Apis mellifera* и пчелињег крпеља *Varroa*
40 *destructor*

41
42 **IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ (навести број страна, поглавља, слика,**
43 **шема, графика и сл.):**

44 Докторску дисертацију која је написана на 180 страна чине поглавља: Увод, Преглед
45 литературе, Циљ и задаци истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија,
46 Закључци и Литература. У оквиру ове докторске дисертације налазе се 32 табеле, 10
47 слика и 84 графика.

48
49 **V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ (дати кратак**
50 **опис сваког поглавља дисертације: увода, прегледа литературе, циља и задатака**
51 **истраживања, материјал и метода, резултата, дискусије, списка референци):**

52
53 У **Уводу**, кандидат описује улогу медоносне пчеле *Apis mellifera* као
54 најважнијег опрашивача у природи и врсте која у великој мери доприноси производњи
55 хране у свету и очувању диверзитета биљних култура. У истом поглављу се затим
56 наводе методе које су се користиле за испитивање варијабилности врсте *A. mellifera*,
57 при чему се посебан нагласак ставља на брзе и прецизне молекуларне методе.
58 Кандидат даље наводи да је најчешће коришћени маркер у оквиру митохондријалне

1 ДНК (мтДНК) медоносне пчеле tRNA^{leu}-cox2 интергенски регион, на основу кога је
2 утврђено пет еволутивних линија пчела. На основу овог маркера, у Србији је до сада
3 откривено седам хаплотипова *A. mellifera*. У поглављу **Увод** помиње се *Varroa*
4 *destructor*, као најзначајнији паразит европске медоносне пчеле и његово директно и
5 индиректно штетно деловање на различите развојне стадијуме пчеле *A. mellifera*. Од
6 шест хаплотипова *V. destructor* који су 2000. године описани на азијској медоносној
7 пчели *Apis cerana*, само су К и Ј успели да успешно паразитирају и размножавају се у
8 друштвима *A. mellifera*. Поменути два хаплотипа сматрају се делимично изолованим
9 клоновима чије популације изван Азије карактерише одсуство генетичких разлика, а
10 које су последица генетичког „уског грла“ насталог у време њиховог преласка са једне
11 на другу врсту пчеле. Анализом секвенци цитохром оксидаза 1 (*cox1*), АТП синтаза 6
12 (*atp6*), цитохром оксидаза 3 (*cox3*) и цитохром б (*cytb*) митохондријалних гена *V.*
13 *destructor* откривено је неколико нових хаплотипова овог паразита у Азији, који
14 представљају могућу претњу за пчелиња друштва изван азијског континента. У
15 завршном делу **Увода** помиње се значај испитивања односа домаћин-паразит на
16 генетичком нивоу, с обзиром да су у литератури описани случајеви пчелињих
17 друштава која су након селекције постала толерантна на деловање паразита.

18 У поглављу **Преглед литературе**, у оквиру подпоглавља које се односи на *A.*
19 *mellifera*, докторанд Бојан Гајић наводи податке везане за значај гајења медоносне
20 пчеле и очувања њеног диверзитета, с обзиром на то да смањење броја и генетичког
21 диверзитета пчела директно утиче на смањење броја биљних врста које зависе од
22 опрашивања уз помоћ инсеката. У наредном делу наводе се подаци о заступљености
23 *A. mellifera*, као и њених подврста на тлу Европе, које су на основу морфометријских
24 параметара сврстане у четири еволутивне линије. У истом подпоглављу укратко се
25 износе карактеристике подврста *A. mellifera* и помињу оне које насељавају територију
26 Србије. Кандидат нас затим упознаје са испитивањима варијабилности медоносне
27 пчеле која се заснивају на коришћењу класичних морфометријских, односно
28 савремених молекуларно-генетичких метода. Метода класичне морфометрије
29 подразумева анализу 36 морфолошких параметара, због чега је доста спора за
30 извођење. Прве анализе генетичке варијабилности обухватале су испитивање
31 алозимских варијанти (различитих форми ензима са истом функцијом које кодирају
32 различити алели истог генског локуса). Након њих, уведене су анализе
33 микросателита, који представљају нуклеотидне поновке унутар једарне ДНК, а које
34 чине низови од два до шест базних парова. Највише резултата у вези генетичке
35 варијабилности *A. mellifera* добијено је коришћењем маркера у оквиру
36 митохондријалне ДНК. Најчешће коришћени мтДНК маркер за утврђивање
37 хаплотипова медоносне пчеле је tRNA^{leu}-cox2 секвенца, на основу које је дефинисано
38 пет митохондријалних линија *A. mellifera*. У последњем подпоглављу које се односи на
39 медоносну пчелу, кандидат говори о испитивањима варијабилности *A. mellifera* у
40 Србији и земљама у окружењу, која су се заснивала на квалитативним,
41 морфометријским, хромозомским, молекуларно-генетичким и бихејвиоралним
42 разликама. Резултати ових истраживања показала су постојање три екотипа
43 (банатског - В, тимочког - Т и сјеничко-пештерског - S), као и седам хаплотипова (C1a,
44 C2c, C2d, C2e, C2i, C2o, C2p) *A. mellifera* у Србији.

45 У подпоглављу које се односи на *V. destructor*, кандидат износи податке
46 везане за морфологију паразита, његове биолошке карактеристике, развојни циклус,
47 патогено деловање и помиње сложени однос између домаћина и паразита. Пчелињи
48 крпељ *V. destructor* је облигатни ектопаразит медоносне пчеле који се храни
49 искључиво хемолимфом ларви, лутки и одраслих пчела. Између мужјака и женки
50 постоји веома изражен полни диморфизам који се испољава разликама у облику,
51 величини и боји тела одраслих облика. Читав развојни циклус вароа, који је у
52 потпуности усаглашен са развојним циклусом пчеле, чини овог паразита веома
53 патогеним по свог домаћина. Директно штетно деловање вароа заснива се на
54 узимању хемолимфе, чиме се у телу младе пчеле радилице смањује садржај воде,
55 концентрација протеина и угљених хидрата, док трутови инфицирани у стадијуму
56 ларве касније показују слабе летачке способности и мању продукцију сперматозоида.
57 Индиректно патогено деловање постиже се преношењем и/или умножавањем
58 пчелињих вируса, повећањем њихове вируленције и последичним испољавањем
59 клиничких симптома у до тада латентно инфицираним пчелињим друштвима.
60 Испитивања варијабилности пчелињег крпеља започета су због уочене разлике у

1 способности репродукције варое у затвореном леглу *A. mellifera* и *A. cerana*, као и
2 различите патогености у друштвима ове две врсте пчела. Аутор ове дисертације
3 затим наводи да су се у истраживањима варијабилности варое користиле методе
4 морфометрије, насумичне амплификације полиморфне ДНК (RAPD) и ланчане
5 реакције полимеразе са третирањем продуката рестрикционим ензимом (PCR-RFLP).
6 Последња наведена метода, заједно са секвенционирањем фрагмената мтДНК,
7 коначно је омогућила разјашњење проблематике у вези таксономског статуса *V.*
8 *destructor* и утврдила разлике између хаплотипова.

9 У подпоглављу које се бави сложеним односом домаћин-паразит, кандидат
10 наводи истраживања која су се бавила дистрибуцијом хаплотипова варое и пчела,
11 односно пчелињим друштвима са специфичним особинама, које су им омогућиле
12 толеранцију на вароу.

13 У **Циљу и задацима истраживања**, кандидат наводи да је циљ његове
14 дисертације био испитивање генетичке варијабилности *A. mellifera* и *V. destructor* на
15 територији Србије, уз праћење корелације у дистрибуцији хаплотипова домаћина и
16 паразита. Како би дошао до постављеног циља, кандидат је морао да изврши
17 идентификацију хаплотипова медоносне пчеле *A. mellifera* које потичу са географски и
18 еколошки различитих станишта на територији Србије, да идентификује хаплотипове
19 пчелињег крпеља *V. destructor* са истих локалитета као у случају пчела и коначно, да у
20 функцији анализе односа домаћин-паразит, на посматраним локалитетима изврши
21 испитивање корелације у дистрибуцији хаплотипова медоносне пчеле и варое.

22 У поглављу **Материјал и методе** детаљно се наводе подаци о локалитетима
23 са којих је извршено узорковање пчела и варое, њиховим географским и еколошким
24 карактеристикама, броју и начину узимања узорака, као и примењеној техници
25 пчеларења. Након тога наводе се методе које су коришћене за изолацију ДНК,
26 амплификацију и пурификацију анализираних секвенци, откривање варијабилности у
27 *cox1* и *cytb* секвенцама варое, као и о статистичким методама коришћеним за обраду
28 резултата. Узорковање одраслих пчела радилица и одраслих женки пчелињег крпеља
29 извршено је током 2011. године са осам локалитета на територији Србије, при чему су
30 на сваком локалитету узорци узимани са једног пчелињака. Сви локалитети су на
31 основу надморске висине распоређени у четири категорије, док се за посматрана
32 пчелиња друштва водило рачуна и о коришћеној техници пчеларења. Узорци пчела
33 сакупљени су из 48 пчелињих друштава, док су паразити узорковани из 29 кошница из
34 којих су претходно одређени хаплотипови пчела процењени као погодни за анализе
35 корелације хаплотипова домаћина и паразита. Одрасле живе пчеле радилице
36 узорковане су са површине рамова, а одрасли паразити са подњаче кошница које су
37 биле третиране акарицидом у претходна 24 часа, након чега су у 70% етанолу
38 транспортовани у лабораторију и чувани на -20 °С. Укупна ДНК изолована је из три
39 десна екстремитета пчеле коришћењем комерцијалног сета хемикалија KAPA Express
40 Extract Kit (Кара Biosystems, South Africa), односно из целих појединачних паразита
41 коришћењем истог сета хемикалија према протоколу произвођача. Изолована ДНК
42 складиштена је у замрзивачу на -20 °С до коришћења у PCR реакцији. За
43 амплификацију tRNA^{leu}-*cox2* секвенце *A. mellifera* коришћени су специфични прајмери
44 E2 (5'-GGCAGAATAAGTGCATTG-3') и H2 (5'-CAATATCATTGATGACC-3'). Секвенца
45 *cox1* (376 бп) *V. destructor* амплификована је прајмерима COI376bpF (5'-
46 TACAAAGAGGGGAAGAAGCAGCC-3') и COI376bpR (5'-
47 GCCCCTATTCTTAATACATAGTGGAAAATG-3'), секвенца *cox1* (929) прајмерима
48 10KbCOIF1 (5'-CTTGTAATCATAAGGATATTGGAAC-3') и 6,5KbCOIR (5'-
49 AATACCAGTGGGAACCGC-3'), секвенца *atp6-cox3* прајмерима 16KbATP6F (5'-
50 GACATATATCAGTAACAATGAG-3') и 16KbCOIIIR (5'-GACTCCAAGTAATAGTAAAACC-
51 3'), а секвенца *cytb* прајмерима 10KbCytbF-1 (5'-GCAGCTTTAGTGGATTTACCTAC-3') и
52 10KbCytbPRIM (5'-CTACAGGACACGATCCCAAG-3'). Све амплификације изведене су у
53 реакцијама запремине 25 µl уз помоћ KAPA Taq PCR кита (Кара Biosystems, South
54 Africa). Раздвајање амплификованих секвенци *A. mellifera* и *V. destructor* извршено је
55 електрофорезом на 2% агарозном гелу, а визуелизација трака под УВ светлом након
56 бојења гела у етидијум бромиду. Одабрани PCR продукти пчела и вароа
57 пурификовани су коришћењем FastGene® Gel/PCR Extraction кита (Nippon Genetics
58 Europe GmbH, Germany) и послати на секвенционирање које је извршено у оба смера.
59 Све добијене секвенце поређене су са одговарајућим секвенцама претраживањем

1 генске банке (GenBank) уз помоћ BLAST опције. За обраду и анализу добијених
2 секвенци коришћени су софтвери BioEdit и Clustal W. Након уочених полиморфизама
3 појединачних нуклеотида само у *cox1* и *cytb* секвенцама варое, идентификација
4 хаплотипова преосталих узорака варое извршена је уз помоћ градијентне ARMS
5 (Amplification Refractory Mutation System) и PCR-RFLP методе. За извођење ARMS
6 методе коришћени су новодизајнирани прајмери BG-K (5'-
7 AAGAAGCAGCCTTTTGGAAATTTA-3') и BG-S1 (5'-AAGAAGCAGCCTTTTGGAAATTTG-
8 3') у пару са раније коришћеним прајмером 6,5KbCOIR (5'-AATACCAGTGGGAACCGC-
9 3'). У циљу идентификације хаплотипова варое на основу *cytb*, најпре су дизајнирани
10 прајмери Cytb226For (5'-CTCGTATTGTTTCGAGATTGTAATAGAGG-3') и Cytb226Rev (5'-
11 CCTCAAAAAGATATTTGTCCTCAAGG-3'). Овако добијени PCR продукт третиран је
12 рестрикционим ензимом *Asel* (*Vspl*), након чега су производи рестрикције раздвајани
13 електрофорезом на 2% агарозном гелу који је обојен етидијум бромидом.

14 У поглављу **Резултати** наводи се да је анализом tRNA^{leu}-*cox2* секвенци *A.*
15 *mellifera* уочено шест полиморфних нуклеотидних позиција, на основу којих је
16 идентификовано шест хаплотипова медоносне пчеле (C1a, C2c, C2d, C2e, C2i и
17 C2aa). Резултати χ^2 теста показали су статистички врло значајну разлику у
18 заступљености хаплотипова у укупном узорку ($p < 0,001$), при чему је најзаступљенији
19 био хаплотип C2d (у 50% случајева), а најмање заступљени хаплотипови C2i и
20 новоописани C2aa (у по 2% случајева). На три посматрана локалитета утврђен је по
21 један хаплотип, на једном локалитету два и на четири локалитета утврђено је
22 присуство три хаплотипа пчела. На основу разлике у надморској висини посматраних
23 локалитета, утврђено је да је 37,5% узорака пчела потицало са надморске висине до
24 200 м, по 25,0% са висине 201-500 м и 501-1000 м и 12,5% са надморске висине преко
25 1000 м. Ипак, утврђено је да надморска висина не утиче статистички значајно на
26 распоред хаплотипова пчела ($p = 0,128$).

27 Секвенционирањем фрагмента *cox1* гена 44 узорка варое утврђено је 50%
28 јединки К хаплотипа, 16% јединки са мутацијом на позицији 1932 и 34% јединки са
29 дуплим пиковима на истој полиморфној позицији. Секвенционирањем фрагмента
30 *cytb* гена 12 вароа утврђено је 33% јединки К хаплотипа, 17% са мутацијом на
31 позицији 10133, као и 50% јединки са дуплим пиковима. Узорци са мутацијама у *cox1* и
32 *cytb* сврстани су у нове хаплотипове који су названи Србија 1 (S1) и Пештер 1 (P1),
33 док су јединке са дуплим пиковима у обе секвенце означене као хетероплазмичне. На
34 основу анализе *cox1* секвенце коришћењем ARMS методе, утврђено је 48,2% јединки
35 К хаплотипа, 31,8% јединки S1 хаплотипа и 20,0% јединки са хетероплазмијом.
36 Анализом *cytb* секвенци RFLP методом утврђено је 83,7% јединки К хаплотипа, 4,5%
37 јединки P1 хаплотипа, док је 11,8% вароа било са хетероплазмијом. Резултати χ^2
38 теста ($p < 0,001$) показују да појављивање К хаплотипа статистички врло значајно
39 зависи од анализираних секвенци. Када се посматра дистрибуција јединки варое
40 одређеног хаплотипа, јединке К, S1 хаплотипа и оне са *cox1* хетероплазмијом
41 пронађене су на свим локалитетима, при чему структура хаплотипова не зависи од
42 локалитета ($p = 0,520$). Јединке К хаплотипа и оне са *cytb* хетероплазмијом пронађене
43 су на свих осам, док је P1 хаплотип утврђен на четири локалитета. Ни у овом случају,
44 фактор локалитет не утиче статистички значајно на учесталост хаплотипова
45 утврђених анализом *cytb* секвенце ($p = 0,372$). Када се заступљеност хаплотипова
46 варое посматра између кошница, статистички значајне ($p < 0,05$) и врло значајне
47 разлике ($p < 0,001$) утврђене су анализом *cox1* секвенце на локалитету Чајетина, као и
48 између кошница на локалитетима Београд и Чајетина на основу анализе секвенце
49 *cytb*. У **Резултатима** се даље наводи да се распоред хаплотипова варое на
50 различитим надморским висинама није статистички значајно разликовао на основу
51 анализе *cox1* ($p = 0,110$), док је структура хаплотипова утврђених на основу *cytb*
52 статистички врло значајно зависила од надморске висине ($p < 0,001$). Распоред
53 хаплотипова варое дефинисаних на основу *cytb* врло значајно је зависио и од
54 примењене технике пчеларења ($p < 0,001$).

55 Анализом спојених *cox1* и *cytb* секвенци, утврђена је статистички врло
56 значајна разлика ($p < 0,001$) у структури хаплотипова на испитиваним локалитетима
57 посматраним истовремено. Статистички значајне ($p < 0,05$) и врло значајне разлике
58 ($p < 0,001$) у заступљености хаплотипова варое добијене су између кошница на
59 локалитету Београд и између кошница на локалитету Чајетина. На свим категоријама
60 надморске висине установљени су К-К, S1-К хаплотипови варое, као и К-КP1 и KS1-К

1 јединке, док је хаплотип K-P1 изостао једино на надморској висини 201-500 м.
2 Тестирањем је утврђено да од надморске висине врло значајно зависи заступљеност
3 хаплотипова варое ($p < 0,001$). Као последица присуства K-P1 хаплотипа само у
4 кошницама које нису сељене, χ^2 тестом је установљено да учесталост хаплотипова
5 варое дефинисаних анализом спојених *cox1* и *cytb* секвенци врло значајно зависи од
6 примењене технике пчеларења ($p = 0,007$).

7 У делу поглавља **Резултати** који се односи на испитивање корелације између
8 хаплотипова домаћина и паразита, наводи се да заступљеност хаплотипова варое
9 дефинисаних анализом одвојених и спојених *cox1* и *cytb* секвенци, посматрана на
10 нивоу укупног узорка, не зависи од хаплотипа пчеле ($p > 0,05$). Међутим, пчеле
11 различитих хаплотипова са локалитета Београд, Бољевац и Чајетина разликују се на
12 основу дистрибуције хаплотипова *V. destructor* дефинисаних анализом *cox1* и спојених
13 *cox1* и *cytb* секвенци, као и пчеле са локалитета Чајетина на основу вароа
14 дефинисаних анализом *cytb*. Кандидат је пратећи дистрибуцију хаплотипова *V.*
15 *destructor* дефинисаних анализом *cox1* секвенце на C2d хаплотипу *A. mellifera* са
16 различитих локалитета, установио статистички врло значајне разлике ($p < 0,001$), док
17 су врло значајне ($p < 0,001$) и значајне разлике ($p < 0,05$) утврђене за хаплотипове
18 дефинисане на основу *cytb*, као и на основу спојених *cox1* и *cytb* секвенци.
19 Статистичка значајност на нивоу $p < 0,001$ и $p < 0,05$ уочена је на основу распореда
20 хаплотипова варое добијених анализом *cytb* и спојених *cox1-cytb* секвенци на пчелама
21 C2e хаплотипа, док на пчелама C2c разлике нису биле статистички значајне.

22 У поглављу **Дискусија**, добијени резултати који се односе на варијабилност
23 медоносне пчеле, пчелињег крпеља и корелацију у дистрибуцији њихових
24 хаплотипова, протумачени су и поређени са резултатима других истраживача који су
25 се бавили сличном проблематиком.

26 27 **VI ЗАКЉУЧЦИ ИСТРАЖИВАЊА (навести закључке који су приказани у** 28 **докторској дисертацији):**

- 29
30 1. Идентификација шест хаплотипова *A. mellifera* указује на знатно већу
31 генетичку варијабилност медоносне пчеле у Србији него у земљама из
32 окружења. Хаплотип C2aa утврђен је први пут у Србији.
- 33 2. Постојала је значајна разлика у заступљености хаплотипова *A. mellifera* у
34 укупном узорку, као и између посматраних локалитета.
- 35 3. На основу тачкастих мутација и дуплих пикова утврђених на полиморфним
36 позицијама у *cox1* и *cytb* секвенцама методом секвенционирања,
37 дефинисани су нови S1 и P1 хаплотипови *V. destructor* и откривене јединке
38 са нуклеотидном хетероплазмијом.
- 39 4. ARMS и RFLP показале су се као брзе, једноставне, поуздане и економичне
40 методе за идентификацију хаплотипова и утврђивање хетероплазмичних
41 јединки у популацијама *V. destructor*.
- 42 5. Знатно већи број јединки *V. destructor* са мутацијом у *cox1* него у *cytb*
43 секвенци може се тумачити последицом дужег присуства S1 од јединки P1
44 хаплотипа.
- 45 6. Одсуство јединки са истовременом мутацијом у *cox1* и *cytb* указује да S1 и
46 P1 хаплотипови највероватније потичу из две различите популације *V.*
47 *destructor*.
- 48 7. Велика заступљеност нових хаплотипова *V. destructor* на територији Србије
49 демантује досадашњи општеприхваћени став о недостатку полиморфизама
50 мтДНК код вароа изван Азије.
- 51 8. У друштвима *A. mellifera* из Србије, K хаплотип *V. destructor* заступљен је
52 знатно мање него што се раније мислило.
- 53 9. Анализом спојених *cox1* и *cytb* секвенци утврђено је да структура
54 хаплотипова *V. destructor* зависи од локалитета, док анализа одвојених
55 секвенци није показала значајну зависност.

- 1 10. Због утврђене коегзистенције хаплотипова и јединки са хетероплазмијом,
2 за анализе варијабилности *V. destructor* неопходно је узорковати више од
3 једне варое по кошници.
- 4 11. На основу високе учесталости јединки са хетероплазмијом и специфичног
5 биолошког циклуса, *V. destructor* би се могла користити као модел-таксон
6 за проучавање механизма настанка, преношења и одржавања
7 хетероплазмије.
- 8 12. У укупном узорку није утврђена корелација у дистрибуцији хаплотипова *A.*
9 *mellifera* и хаплотипова *V. destructor* који на њима паразитирају.
- 10 13. Постојала је значајна разлика у структури хаплотипова варое на пчелама
11 C2d и C2e хаплотипа са различитих локалитета.

12
13 **VII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА**
14 **(навести да ли су добијени резултати у складу са постављеним циљем и**
15 **задацима истраживања, као и да ли закључци произилазе из добијених**
16 **резултата):**

17 Резултати истраживања ове докторске дисертације потпуно су у складу са
18 постављеним циљевима и задацима, а закључци који произилазе из добијених
19 резултата постављени су правилно.

20
21 **VIII КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

22
23 **1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у**
24 **пријави теме?**

25 Докторска дисертација је у потпуности написана у складу са образложењем
26 наведеним у пријави теме.

27
28 **2. Да ли дисертација садржи све елементе прописане за завршену докторску**
29 **дисертацију?**

30 Докторска дисертација садржи све битне елементе и представља оригинални научни
31 рад, чија је тема актуелна и научно оправдана.

32
33 **3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци?**

34 Истраживања спроведена у оквиру докторске дисертације докторанда Бојана Гајића
35 пружила су значајне податке о генетичкој варијабилности *A. mellifera* и *V. destructor* у
36 Србији, постојећим хаплотиповима, њиховој заступљености и географској
37 распрострањености. У овој докторској дисертацији утврђен је нови (C2aa) хаплотип *A.*
38 *mellifera*, који се разликује од седам до сада описаних хаплотипова медоносне пчеле
39 на територији Србије. Осим тога, откривени су S1 и P1 хаплотипови *V. destructor*, који
40 представљају новоописане хаплотипове пчелињег крпеља у Европи. Код одређеног
41 броја анализираних вароа установљена је нуклеотидна хетероплазмија, појава коју
42 карактерише постојање различитих секвенци мтДНК молекула у истој јединки и која
43 до сада није описана код врсте *V. destructor*. За идентификацију хаплотипова варое,
44 као и утврђивање хетероплазмије, по први пут је успешно примењена ARMS метода и
45 PCR-RFLP метода уз употребу *AseI* рестрикционог ензима. Обе поменуте методе, као
46 и нови прајмери који су дизајнирани за њихово извођење, у наредном периоду се могу
47 користити за типизацију *V. destructor* из различитих делова света. Испитивање
48 корелације у дистрибуцији хаплотипова медоносне пчеле и варое омогућила су бољи
49 увид у однос домаћин-паразит на генетичком нивоу. Оригиналност добијених
50 резултата потврђена је објављивањем рада у међународном часопису категорије
51 M21.

1 IX ПРЕДЛОГ:
2

3 На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже (одабрати једну од
4 три понуђених могућности):

- 5 - да се докторска дисертација прихвати а кандидату одобри одбрана
6 ~~- да се докторска дисертација врати кандидату на дораду~~
7 ~~- да се докторска дисертација одбије~~
8
9

10
11 ДАТУМ

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

12
13 13.11.2015.
14

15 Проф. др Зоран Кулишић
16 Факултет ветеринарске медицине
17 Универзитета у Београду
18

19
20
21 Др Жељко Радуловић
22 Институт за медицинска истраживања
23 Универзитета у Београду
24

25
26
27 Проф. др Јевросима Стевановић
28 Факултет ветеринарске медицине
29 Универзитета у Београду
30

31
32
33 Проф. др Соња Радојичић
34 Факултет ветеринарске медицине
35 Универзитета у Београду
36

37
38
39 Проф. др Зоран Станимировић
40 Факултет ветеринарске медицине
41 Универзитета у Београду