

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број захтева: 356/3 -7.4.
Датум: 26.12.2012. године

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на извештај о урађеној докторској дисертацији

Молимо да, сходно члану 46. став 5. тачка 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета" број 131/06), дате сагласност на извештај о урађеној докторској дисертацији кандидата мр ДАРКА ЈЕВРЕМОВИЋА.

Кандидат **мр ДАРКО (Радован) ЈЕВРЕМОВИЋ**, пријавио је докторску дисертацију под називом: «РАСПРОСТРАЊЕНОСТ PPVД И PPV-Rec СОЈЕВА ВИРУСА ШАРКЕ ШЉИВЕ (*Plum pox virus*) У СРБИЈИ И ДИНАМИКА ЊИХОВОГ ШИРЕЊА У ЗАСАДУ ШЉИВЕ», из научне области Заштита биља.

Универзитет је дана 07.12.2011. године, својим актом 02 број 06-8226/10 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: «РАСПРОСТРАЊЕНОСТ PPVД И PPV-Rec СОЈЕВА ВИРУСА ШАРКЕ ШЉИВЕ (*Plum pox virus*) У СРБИЈИ И ДИНАМИКА ЊИХОВОГ ШИРЕЊА У ЗАСАДУ ШЉИВЕ».

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације мр ДАРКА ЈЕВРЕМОВИЋА, образована је на седници одржаној 24.10.2012. године, одлуком Факултета број 356/1-5.2. у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област

1. др Бранка Крстић, редовни професор, Фитопатологија,
2. др Светлана Пауновић, научни саветник, Фитопатологија,
3. др Мирко Ивановић, редовни професор, Фитопатологија,
4. др Александра Булајић, ванредни професор, Фитопатологија,
5. др Оливера Петровић - Обрадовић, редовни професор, Ентомологија и Пољопривредна зоологија.

Наставно-научно веће Пољопривредног факултета прихватило је извештај Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације, на седници одржаној 26.12.2012. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 356/3-7.4.
Датум: 26.12.2012. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 73. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 26.12.2012. године, донело је

ОДЛУКУ

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднео **мр ДАРКО ЈЕВРЕМОВИЋ** и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«РАСПРОСТРАЊЕНОСТ PPV-D И PPV-Rec СОЈЕВА ВИРУСА ШАРКЕ ШЉИВЕ (*Plum pox virus*) У СРБИЈИ И ДИНАМИКА ЊИХОВОГ ШИРЕЊА У ЗАСАДУ ШЉИВЕ»**.

II Универзитет је дана 07.12.2011. године, актом број 02 број 06-8226/10 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у часопису међународног значаја:

Dallot, S., Glasa, M., **Jevremovic, D.**, Kamenova, I., Paunovic, S., Labonne, G. (2011): Mediterranean and central-eastern European countries host viruses of two different clades of plum pox virus strain M. Archives of Virology, 156: 539-542.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору проф. др Бранки Крстић, Институту за фито-медицину, Студентској служби и архиви.

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

Предмет: Оцена урађене докторске дисертације мр Дарка Јевремовића

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета–Универзитета у Београду бр. 356/1-5.2. од 24.10.2012. именована је Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације мр Дарка Јевремовића, истраживача сарадника Института за воћарство у Чачку под насловом: „**Распрострањеност PPV-D и PPV-Rsc сојева вируса шарке шљиве (*Plum pox virus*) у Србији и динамика њиховог ширења у засаду шљиве**“. Комисија у саставу др Бранка Крстић, ред. проф., др Светлана Пауновић, научни саветник Института за воћарство у Чачку, др Мирко Ивановић, ред. проф., др Александра Булајић, ванр. проф. и др Оливера Петровић-Обрадовић, ред. проф., на основу прегледа докторске дисертације, подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација мр Дарка Јевремовића, написана је на 121 страни текста и укључује резиме са кључним речима на српском и енглеском језику, 25 табела, 9 графика и 38 слика.

Докторска дисертација садржи 8 основних поглавља, и то: Увод (стр. 1-2), Преглед литературе (3-18), Циљеви истраживања (19-20), Материјал и методе (21-37), Резултати (38-79), Дискусија (80-102), Закључак (103-105) и Литература (106-121). На крају текста дисертације налази се Прилог (26 страна). Поглавља: Преглед литературе, Материјал и методе, Резултати и Дискусија садрже више потпоглавља.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Увод. У уводу је указано на значај гајења и производњу коштичавих воћака у Србији, где шљива заузима доминантно место. Изнети су основни подаци о економским штетама које проузрокује вирус шарке шљиве (*Plum pox virus*, PPV), проузоквач најзначајније вирусне болести коштичавих воћака. О економском значају ове болести говоре и изнети подаци о процењеном броју заражених стабала у Европи и Србији, као и процењени износ штете у последњих тридесет година који се мери милијардама евра.

Преглед литературе. У поглављу *Преглед литературе* (7 потпоглавља) изнети су доступни литературни извори о различитим аспектима вируса шарке шљиве. Прво потпоглавље *Распрострањеност вируса шарке шљиве* описује географску распрострањеност овог вируса у свету, са освртом на његово присуство у Србији на шљиви, кајсији и брескви. Потпоглавље *Особине вируса шарке шљиве* приказује: таксономско место, величину и састав вирусних честица, биофизичка својства и организацију генома. У потпоглављу *Сојеви* наведене су основне карактеристике до сада идентификованих сојева PPV (PPV-M, -D, -EA, -C, -Rsc, -W и -T). У потпоглављу *Симптоми* текстуално и илустративно су приказани симптоми које вирус шарке изазива на различитим биљним органима код гајених *Prunus* врста домаћина. Потпоглавље *Домаћини* обрађује литературне податке који се односе на описане врсте домаћина вируса шарке међу гајеним, као и осталим *Prunus* врстама које расту у природи, поред путева и у урбаним срединама. У *Начини преношења вируса* указује се

на основне начине преношења, а потпоглавље *Детекција и карактеризација* описује најзначајније тестове који се користе за детекцију и карактеризацију овог вируса.

Циљеви истраживања. Први део дисертације имао је за циљ редефинисање статуса распрострањености сојева шарке у засадама шљиве и кајсије у различитим регионима гајења, имајући у виду резултате ранијих истраживања који указују на готово искључиву заступљеност PPV-M соја у засадама брескве, а присуство PPV-D и PPV-Res соја у засадама шљиве и кајсије. Циљ другог дела истраживања који је спроведен у експерименталном засаду шљиве, био је утврђивање недовољно познатих епидемиолошких карактеристика PPV-Res соја у директној конкуренцији са PPV-D сојем, проучавањем динамике њиховог ширења из интерних и екстерних извора заразе на основу упоређивања нуклеотидних секвенци одабраног варијабилног региона генома свих детектованих изолата.

Материјал и методе рада. У 2 потпоглавља обухваћене су методе примењене за испитивања спроведена у пољу и лабораторији. Биљни материјал за први део истраживања сакупљен је у периоду 2008-2010. године из 12 региона Србије. Узорци лишћа са типичним симптомима шарке узимани су из засада различите старости и интензитета гајења, по посебно планираном протоколу који је имао за циљ да омогући утврђивање истовременог присуства више сојева у што већем броју воћњака из већег броја производних региона, а не утврђивање потпуне распрострањености сојева унутар сваког засада (потпоглавље *Испитивање присуства и карактеризација изолата вируса шарке из засада шљиве и кајсије на територији Србије*). *Детекција и типизирање изолата вируса шарке* урађена је IC-RT-PCR методом. Након *Облагања плоча специфичним антителима*, инкубирања и њиховог испирања наливени су претходно примпремљени узорци по описаној процедури (*Припрема узорака и имуновезивање вируса Immuncapture-IC*). *Реверзна транскрипција (Reverse transcription-RT)* је обављена кроз корак денатурације, комплементарног везивања прајмера и саме реверзне транскрипције. За одређивање припадности изолата одређеном соју спроведене су четири детаљно описане PCR реакције (*Ланчана реакција полимеразе Polymerase Chain Reaction-PCR*) применом сетова специфичних прајмера. Електрофорезом у агарозном гелу и бојењем етидијум-бромидом извршена је *Анализа PCR производа*. Услужно *Секвенционирање делова генома одабраних изолата* обављено је у Macrogen Inc., Јужна Кореја. *Филогенетска анализа* одабраних изолата је спроведена вишеструким међусобним упаривањем секвенци изолата из Србије, као и поређењем са секвенцама других изолата доступних у NCBI бази података и бази web сајта FP7 пројекта „Sharka Containment“ (SharCo). Вишеструко упоређивање нуклеотидних секвенци, прорачун генетичке удаљености и филогенетска реконструкција обављени су у програму MEGA5. Генеалогска повезаност изолата урађена је помоћу програма TCS. Секвенце добијене у овом раду унете су у базу web сајта пројекта SharCo. Други део истраживања (*Испитивање динамике ширења сојева шарке шљиве, присуства и бројности лисних ваши у експерименталном засаду шљиве*) спроведен је у *Експерименталном засаду* у близини Чачка, са циљем праћења динамике ширења изолата у засаду од 400 стабала шљиве сорте Чачанска лепотица подигнутом 2008. године. Исте године извршена је инокулација 8 биљака са претходно окарактерисаним PPV-D и PPV-Res изолатима (секвенциониран комплетан геном). Прегледом терена у околини експерименталног засада маркирана су сва стабла *Prunus* врста која су IC-RT-PCR методом анализирана на присуство PPV, изолати су секвенционирани у C-ter N1b-N-ter CP региону генома ради упоређивања са изолатима из експерименталног засада. У току 2008-2011. године вршени су *Визуелни прегледи* свих стабала у засаду и описно су оцењивани уочени симптоми. Испитивање присуства

вируса шарке је спроведено DAS-ELISA методом (*Серолошки тест потврђивања вируса*). ELISA позитивни узорци су окарактерисани применом IC-RT-PCR и сви изолати су секвенционирани у C-ter Nib-N-ter CP региону генома (*Молекуларни тест типизирања детектованих изолата вируса шарке*). Добијене секвенце су обрађене и међусобно поређене у програму Bioedit, док је за проучавање филогеографске историје диверзитета изолата примењен програм TCS (*Филогенетска анализа*). *Праћење бројности и врста лисних ваши у експерименталном засаду* је извршено током 2009-2011. године, детерминацијом уловљених лисних ваши (*Sticky-shoot* метода).

Резултати. Резултати истраживања обрађени су у оквиру 2 потпоглавља: *Распрострањеност сојева шарке шљиве у Србији* (6 потпоглавља) и *Динамика ширења сојева шарке шљиве, присуство и бројност лисних ваши у експерименталном засаду* (4 потпоглавља). Резултати су приказани систематично и јасно, уз прецизна текстуална тумачења, прегледне табеле, слике и графиконе који илуструју одговарајуће делове истраживања. Из потпоглавља *Резултати IC-RT-PCR анализа* се види да је на основу молекуларних анализа узорка лишћа шљиве и кајсије, PPV потврђен код 278 узорака (94 воћњака и 6 усамљених стабала из 12 округа Србије), од чега је код 55,7% узорака утврђен PPV-Rec, код 26,3% PPV-D и код 5,4% PPV-M, а мешане инфекције код 12,6% узорака. Код мешаних инфекција потврђене су све могуће комбинације присутних сојева, а доминирају узорци истовремено заражени са PPV-D и PPV-Rec сојем (68,6%). Потпоглавља *Распрострањеност сојева шарке у узорцима шљиве* и *Распрострањеност сојева шарке у узорцима кајсије* приказују да је у узорцима шљиве у појединачним инфекцијама доминантно присутан PPV-Rec сој (53,5%), следе PPV-D (27,9%) и PPV-M (5,4%). Код 13,2% позитивних узорака су потврђене све комбинације мешаних инфекција, међу њима су најбројније инфекције са PPV-D и PPV-Rec (67,6%). У узорцима кајсије је доминантно присутан PPV-Rec сој (85%), а у по 5% узорака су присутни PPV-D сој, PPV-M сој и мешане инфекције (PPV-D и PPV-Rec сојем). Графички приказ *Заступљености сојева шарке на нивоу засада* јасно илуструје структуру засада са утврђеним сојевима. У 47% засада утврђено је присуство само једног соја (PPV-Rec), у 47% присуство PPV-D и PPV-Rec, а у 6% присуство сва три соја. У *Распрострањеност сојева на нивоу округа* сликовито је приказана географска дистрибуција сојева у главним производним подручјима шљиве и кајсије. Сва три соја шарке су утврђена у свим испитиваним окружњима. У осам округа доминира PPV-Rec, а у четири PPV-D. Мешане инфекције нису утврђене у 2 од 12 испитиваних округа. *Анализа нуклеотидних секвенци C-ter Nib-N-ter CP и P3-6K1 региона генома* је урађена за укупно више од 1200 нуклеотида сваког од 41 одабраног изолата (39 из шљиве и 2 из кајсије). Сви изолати поседују секвенце за кодирање DAG трипептида који се сматра есенцијалним за преношење изолата лисним вашим. Филогенетско стабло реконструисано од нуклеотидних секвенци C-ter Nib-N-ter CP региона генома јасно показује груписање у три кластера изолата који одговарају PPV-M, -D и -Rec сојевима. Утврђена је и приказана мрежа генеалогске (родословне) повезаности PPV-D и -Rec изолата која указује на њихову велику дивергентност, као и да повезаност сродних секвенци није условљена географским пореклом нити врстом домаћина. Секвенце PPV-D и -Rec изолата из Србије су даље упоређене са секвенцама ових сојева из других земаља света. Реконструисана су филогенетска стабла и дате су прорачунате вредности генетичке удаљености свих анализираних изолата, 206 PPV-Rec и 370 PPV-D изолата за регион C-ter Nib-N-ter CP и 131 PPV-Rec и 224 PPV-D изолата за регион P3-6K1, само изолата из Србије (46 PPV-Rec и 22 PPV-D изолата за регион C-ter Nib-N-ter CP и 36 PPV-Rec и 18 PPV-D изолата за регион P3-6K1) и посебно изолата из осталих земаља. Анализа секвенци P3-6K1 региона генома потврдила је резултате груписања изолата у кластере одговарајућих сојева добијене IC-RT-PCR анализом. У првом потпоглављу

другог дела *Испитивање присуства вируса шарке у експерименталном засаду у првој години истраживања (2008. година)* истакнуто је да визуелним прегледом свих биљака није утврђена ниједна биљка са симптомима ни DAS-ELISA тестом није утврђено присуство PPV. Испитивањем свих стабала *Prunus* врста која се налазе у непосредној околини код укупно 13 стабала шљиве утврђено је присуство шарке (PPV-Rec код 10 стабала и PPV-D код 3 стабла). Сви ови изолати су секвенционирани у C-ter N1b-N-ter CP региону генома. У трећој декади јуна извршена је инокулација по 4 биљке шљиве у експерименталном засаду са претходно изабраним PPV-D (RS-68pl) и PPV-Rec (RS-67pl) изолатима (интерни извор инфекције). Изолати за инокулацију су изабрани из колекције изолата на бази испољених разлика у секвенци C-ter N1b-N-ter CP у односу на PPV изолате из непосредног окружења експерименталног засада. *Визуелним прегледима* у 2009. години утврђени су симптоми вируса шарке на 3 стабала шљиве и свим инокулисаним стаблима (друго потпоглавље). Сprovedени *ELISA тест* је потврдио присуство PPV код свих биљака са симптомима. Типизирањем изолата утврђено је присуство PPV-Rec код 2, а PPV-D код једног стабла. Код инокулисаних стабала типизирање је дало очекиване резултате сагласно инокулацији одговарајућим изолатом. Поређење добијених секвенци са секвенцама инокулума и секвенцама изолата из околине засада (*Секвенционирања*; прилози 4 и 5), као што је и *TCS анализа* генеалошке повезаности изолата илустративно показала, указали су да новозаражена стабла шљиве у засаду нису заражена изолатима са инокулисаних стабала. Секвенце PPV-Rec изолата су испољиле дивергентност у 10 и 12 нуклеотида, а PPV-D изолат још већу дивергентност од 13 нуклеотида у односу на изолат коришћен као инокулум. *Праћење бројности и врста лисних ваши* 2009. године у експерименталном засаду показало је да је највећа бројност популације је била у пролећном периоду (друга декада маја), а од преко 40 ухваћених врста лисних ваши доминирале су врсте из рода *Aphis* (34%). Идентификоване векторске врсте пратиле су тренд бројности осталих детектованих врста са изузетком треће декаде јуна. Визуелним прегледима 2010. године су на још 20 стабала примећени симптоми шарке, а присуство PPV потврђено је ELISA тестом (треће потпоглавље). Типизирањем сојева утврђено је да је код 18 стабала присутан PPV-Rec, а код 2 стабла PPV-D сој. Анализа секвенци ових изолата показала је да зараза не потиче са инокулисаних стабала. Праћењем бројности ваши током 2010. године, највећа бројност је утврђена у првој декади јуна, а доминирале су врсте из родова *Myzocallis* и *Aphis*. Резултати последње године истраживања описани су у четвртом потпоглављу. Визуелним прегледима су на 45 стабала уочени симптоми, а присуство PPV је потврђено ELISA тестом. Карактеризацијом је потврђено присуство PPV-Rec соја код 32 стабла, а PPV-D сој код 5 стабала. Осим испитивања у експерименталном засаду, IC-RT-PCR анализа стабала из малог засада шљиве је показала да је 17 стабала заражено PPV-Rec сојем, а 4 стабла PPV-D сојем. Генеалошка анализа је показала да је извор заразе само једног стабла у експерименталном засаду једно од инокулисаних стабала PPV-Rec сојем, док су остала стабла заражена из екстерних извора. Бројност ваши током 2011. године је била ниска, без јасно изражених пикова, а највећи број врста припадао је роду *Aphis*.

Дискусија. Добијени резултати дискутовани су у оквиру 2 потпоглавља: *Распрострањеност сојева шарке шљиве у Србији* (7 потпоглавља) и *Динамика ширења сојева шарке шљиве, присуство и бројност лисних ваши у експерименталном засаду шљиве* (4 потпоглавља) уз концизна тумачења. Резултати *Распрострањености сојева шарке у засадима шљиве и кајсије у Србији* показали су да је рекомбинантни сој вируса шарке доминантно присутан. Висок проценат заступљености PPV-Rec соја у узорцима шљиве је потврдио претпоставке о његовом дугом присуству у засадима шљиве код нас (*Сојеви вируса шарке у засадима шљиве*). Висок проценат мешаних инфекција код

шљиве, које представљају предуслов за појаву нових рекомбинаната, показује да је шљива „идеална“ врста за испољавање овог феномена. Иако је број анализираних узорака кајсије релативно мали, однос узорака шљива/кајсија одговара њиховој заступљености у засадима у Србији (*Сојеви вируса шарке у засадима кајсије*). Доминантно присуство PPV-Res соја у узорцима кајсије потврђује досадашња испитивања о значајном присуству овог соја код кајсије у Србији. *Заступљеност сојева на нивоу засада* је показала велику хетерогеност испитиваних засада у погледу присутних сојева PPV. У више од половине засада потврђено је присуство два или три соја, што представља предуслов за појаву мешаних инфекција које могу довести до стварања *de novo* рекомбинантних изолата. Испитивање *Географске дистрибуције сојева шарке* показало је да не постоји стриктна географска локализација сојева, што се објашњава неконтролисаним прометом зараженог садног материјала у ранијем периоду. *Анализа нуклеотидних секвенци C-ter N1b-N-ter CP региона* одабраних изолата је потврдила да су сви изолати типични представници одговарајућих сојева. Филогеографска анализа је показала да су изолати са сродним секвенцама распрострањени у географски удаљеним подручјима и да је то последица ширења изолата путем зараженог садног материјала. Највишу вредност генетичког диверзитета има популација PPV-D изолата, па се у складу са тумачењима вредности генетичког диверзитета више аутора може предпоставити да је овај сој „најстарији“ сој шарке присутан у Србији. Процењена вредност генетичког диверзитета PPV-Res изолата је најнижа, па га треба сматрати „најмлађим“. Упоредјујући ове вредности са раније објављеним подацима оповргнута је хипотеза да је бивша Југославија центар дисперзије рекомбинантних изолата јер рекомбинантни изолати из Србије показују нижу вредност генетичког диверзитета у односу на изолате из других земаља. *Анализа нуклеотидних секвенци P3-6K1 региона* указала је на делимично груписање анализираних изолата из Србије у односу на изолате из других земаља. Добијене вредности генетичког диверзитета не дају прецизно објашњење парцијалног груписања изолата које је пре свега условљено мањом варијабилношћу овог региона генома у односу на N-ter CP. У потпоглављу *Динамика ширења сојева шарке шљиве, присуство и бројност лисних ваши у експерименталном засаду шљиве* дискутовани су резултати добијени током четворогодишњег периода. Након првих испитивања просторног и временског ширења вируса шарке на шљиви која су започета пре око 60 година, истраживања спроведена током израде ове дисертације представљају прва истраживања ове врсте која су базирана на анализи секвенци и изради родословне повезаности изолата. У првој години истраживања обављена је провера здравственог статуса посађених садница и анализа биљака из околине засада. У непосредној околини засада утврђено је 13 заражених стабала која представљају потенцијални извор заразе, а исте године извршена је и успешна инокулација одабраних биљака. У другој години истраживања код 3 стабла је потврђена зараза и то 2 PPV-Res и 1 стабло PPV-D сојем. Анализа секвенци ових изолата са секвенцама изолата инокулума и изолата екстерних извора показала је да су стабла из оближњег малог засада вероватни извор заразе PPV-Res изолатима. За новозаражено стабло са PPV-D изолатом постоје два могућа извора заразе: латентна инфекција која није утврђена серолошким тестом или је извор заразе неко непознато стабло које се налази на већој удаљености од засада. У трећој години истраживања у експерименталном засаду је утврђено 20 заражених стабала (18 са PPV-Res и 2 са PPV-D сојем). Анализом секвенци је утврђено да ниједно од заражених стабала није заражено изолатом са инокулисаних стабала. PPV-Res изолати показују високу идентичност секвенци са изолатима из оближњег малог засада што га означава као могући извор инфекције, док PPV-D изолати из експерименталног засада и из екстерних извора показују високу дивергентност. У последњој години истраживања у

засаду је утврђено 37 заражених стабала (32 са PPV-Rec и 5 стабала PPV-D сојем). По први пут је у експерименталном засаду утврђен изолат са секвенцом блиском изолату инокулума, а потврда да се ради о варијанти изолата инокулума је поседовање одговарајућих нуклеотида на специфичним позицијама. Такође, потврђено је и секундарно ширење изолата у засаду са стабала заражених у претходним годинама. Основни извор заразе у првим годинама од заснивања засада су заражена стабла која се налазе у околини засада. Са порастом стабала у заснованом засаду она постају значајан извор инокулума што доводи до појаве секундарних инфекција. Приказани резултати, такође указују на нешто ефикасније ширење PPV-Rec соја у засаду. Испитивања присуства и бројности врста лисних ваши у засаду у трогодишњем периоду показала су да преко 50 врста посећује засад, а од векторских врста најбројније су врсте рода *Aphis*.

Закључци. Закључци су правилно изведени и у потпуности произилазе из добијених резултата. Сprovedена испитивања су потврдила широку распрострањеност вируса шарке и донела нова сазнања о распрострањености сојева шарке у засадима шљиве и кајсије у Србији. Код шљиве и кајсије утврђено је присуство сва три соја са доминантним присуством PPV-Rec соја. У значајном проценту су доказане мешане инфекције које представљају предуслов за појаву нових рекомбинаната, а по први пут је потврђено присуство три соја шарке у једном стаблу у природи. Анализа географске распрострањености сојева је потврдила доминантно присуство рекомбинантног соја у централним и западним деловима, док је PPV-D превалентан у југоисточним деловима Србије. Филогенетска и анализа генеалогске повезаности секвенци је показала да су сви испитивани изолати типични представници одговарајућих сојева. Утврђено је да не постоји међузависност сродних изолата са географским пореклом нити са врстом домаћина, што се објашњава дугогодишњим неконтролисаним ширењем изолата путем зараженог садног материјала. Захваљујући комплексној примени визуелних прегледа, серолошких и молекуларних тестова, који су допуњени анализом секвенци хиперваријабилног региона генома, добијени су први подаци о карактеристикама ширења PPV-D и PPV-Rec сојева у експерименталном засаду шљиве. Генетичка испитивања су потврдила да до заразе у новозаснованим засадима најпре долази путем преношења вируса са заражених стабала у околини, и поред постојања извора инфекције у самом засаду. У периоду од 4 године заражено је преношењем путем лисних ваши 9,25% од укупног броја стабала у засаду. У каснијим годинама долази до појаве секундарних инфекција, али без правилности у локацији новозаражених стабала у односу на извор инфекције. Добијени резултати показују нешто ефикасније ширење PPV-Rec соја у односу на PPV-D сој, али ће се коначни суд о овој хипотези донети након додатних испитивања. Испитивањем присуства и бројности врста ваши у засаду шљиве потврђено је да преко 50 врста посећује засад, од којих је значајан удео векторских врста. Бројност ваши је значајно варијала током испитиваног периода, а највеће бројности су забележене у периоду мај-јун и август-септембар што је од значаја за планирање оптималних рокова за њихово сузбијање.

Литература. У дисертацији је наведено 170 референци (26 домаћих и 144 страних аутора). Избор референци је актуелан и одговара проучаваној проблематици.

Прилози. У прилозима су приказани допунски материјали који су од значаја за боље разумевање овог рада: табела анализе свих испитиваних узорака из испитиваних засада, секвенце изолата из експерименталног засада и његове околине и табеле са врстама и бројем ухваћених крилатих форми различитих врста лисних ваши.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација мр Дарка Јевремовића под насловом: „Распрострањеност PPV-D и PPV-Rec сојева вируса шарке шљиве (*Plum pox virus*) у Србији и динамика њиховог ширења у засаду шљиве“ представља оригиналан научни рад са практичним и фундаменталним значајем. Дисертација је резултат успешно спроведеног самосталног експериментално-истраживачког научног рада кандидата, који је у сагласности са планом истраживања прихваћеним при пријави дисертације. Дисертација представља комплексну студију о раширености сојева PPV у засадима шљиве и кајсије, врстама коштичавих воћака које се заједно гаје у истим производним подручјима, утврђивању сродности изолата базираној на секвенцама варијабилних делова генома и анализама филогенетске и генеалогске повезаности. Такође, резултати ове дисертације доносе прва свеобухватна сазнања о динамици, карактеристикама ширења и конкуренцији PPV-Rec и PPV-D сојева у засаду шљиве, која су и од практичног значаја у контроли шарке шљиве. У истраживањима је примењено више различитих метода детекције и карактеризације вируса шарке, чиме су добијени поуздани резултати који употпуњују постојећа и доносе нова сазнања о генетичкој структури и дивергентности изолата, распрострањености сојева и мешаним инфекцијама као услову за потенцијално настајање нових рекомбинантних варијаната. Применом филогенетских и филогеографских анализа установљена је значајна варијабилност изолата у засадима шљиве и кајсије у Србији. Рад је употпуњен и одређивањем врста биљних ваши у засаду и динамике њихове бројности, што доприноси бољем познавању присуства вектора вируса, а самим тим и бољој контроли обољења.

Имајући у виду све изнето, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију кандидата мр Дарка Јевремовића под насловом: „Распрострањеност PPV-D и PPV-Rec сојева вируса шарке шљиве (*Plum pox virus*) у Србији и динамика њиховог ширења у засаду шљиве“ и предлаже Научно-наставном већу Пољопривредног факултета, Универзитета у Београду, да ову позитивну оцену усвоји и тиме омогући кандидату да пред истом Комисијом јавно брани докторску дисертацију.

Чланови Комисије:

Др Бранка Крстић, ред. проф., (област Фитопатологија)
Пољопривредни факултет, Београд-Земун

Др Светлана Пауновић, научни саветник, (област Фитопатологија)
Институт за воћарство, Чачак

Др Мирко Ивановић, ред. проф., (област Фитопатологија)
Пољопривредни факултет, Београд-Земун

Др Александра Булајић, ванр. проф., (област Фитопатологија)
Пољопривредни факултет, Београд-Земун

Др Оливера Петровић-Обрадовић, ред. проф., (област Ентомологија и пољопривредна зоологија)

Београд, 01.11.2012. Пољопривредни факултет, Београд-Земун

Прилог:

Сепарат објављеног рада мр Дарка Јевремовића научном часопису на SCI листи

Dallot, S., Glasa, M., Jevremovic, D., Kamenova, I., Paunovic, S., Labonne, G. (2011): Mediterranean and central-eastern European countries host viruses of two different clades of plum pox virus strain M. Archives of Virology, 156: 539-542.