

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број захтева: 277/5-6-3
Датум: 26.02.2014. 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 Leonidas Haristos, дипл.инж.

Кандидат **Leonidas (Georgios) Charistos**, дипл.инж., пријавио је докторску дисертацију под називом: «Морфолошке, генетске и производне карактеристике неких популација медоносних пчела (*Apis mellifera* L.) у фитоценолошком саставу северне и централне Грчке»,

из научне области Воћарство и виноградарство.

Универзитет је дана 09.07.2013. године, својим актом број 61206-1251/4-13 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: **«Морфолошке, генетске и производне карактеристике популација медоносних пчела (*Apis mellifera* L.) и зависности од састава фитоценоза северне и централне Грчке».**

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације Leonidas-a Charistos-a, дипл.инж., образована је на седници одржаној 25.12.2013. године, одлуком Факултета број 277/3-5.2., у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област

1. др Мића Младеновић, редовни професор, Пчеларство,
2. др Радица Ђедовић, ванредни професор, Опште сточарство и оплемењивање домаћих и гајених животиња,
3. др Љубиша Станисављевић, ванредни професор, Морфологија, систематика и филогенија животиња,
4. др Maria Bouga, истраживач, Популациона и молекуларна генетика пчела,
5. др Fani Natjina, истраживач, Физиологија патологија пчела.

Наставно-научно веће факултета прихватило је извештај Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације, на седници одржаној 26.02.2014. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 277/5-6.3.
Датум: 26.02.2014. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 123. Закона о високом образовању и члана 24. Правилника о последипломским студијама и докторату наука, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 26.02.2014. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднео **LEONIDAS CHARISTOS**, дипл. инж. и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«МОРФОЛОШКЕ, ГЕНЕТСКЕ И ПРОИЗВОДНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ПОПУЛАЦИЈА МЕДОНОСНИХ ПЧЕЛА (*Apis mellifera* L.) У ЗАВИСНОСТИ ОД САСТАВА ФИТОЦЕНОЗА СЕВЕРНЕ И ЦЕНТРАЛНЕ ГРЧКЕ».**

II Универзитет је дана 09.07.2013. године, својим актом број 61206-1251/4-13 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Радови кандидата у часопису међународног значаја:

1. F. Hatjina, **L. Charistos** (2005). Indirect effects of oxalic acid administered by trickling method on honey bee brood. *Journal of Apicultural Research* 44(4): 172-174.
2. F. Hatjina, M. Bouga, A. Karatasou, A. Kontothanasi, **L. Charistos**, C. Emmanouil, N. Emmanouil, AD. Maistros (2010) Pilot survey of honey bee colony losses in Greece (2007 & 2008) *Journal of Apicultural Research –Special Edition* 49(1): 116-118.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору др Мићи Младеновићу, редовном професору, Институту за зоотехнику, Студентској служби и архиви.

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА**
Датум:

Одлуком Већа научних области биотехничких наука од 09.07.2013. године (Одлука број 61206-1251/4-13), именовани смо у Комисију за оцену урађене докторске дисертације под насловом: **"МОРФОЛОШКЕ, ГЕНЕТСКЕ И ПРОИЗВОДНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ПОПУЛАЦИЈА МЕДОНОСНИХ ПЧЕЛА (*Apis mellifera* L.) У ЗАВИСНОСТИ ОД САСТАВА ФИТОЦЕНОЗА СЕВЕРНЕ И ЦЕНТРАЛНЕ ГРЧКЕ"**, кандидата **Леонидаса Харистоса, дипл.инж.** После прегледа завршене докторске дисертације, подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација *Леонидаса Харистоса, дипл.инж.*, написана је на укупно 141 страна (проред 1,5) у оквиру којих је 35 табела, 41 графикона и 21 слика. У докторској дисертацији цитирано је 155 извора литературе, претежно новијег датума (2000 – 2013.).

Докторска дисертација садржи: Насловну страну на српском и енглеском језику; Информације о ментору и члановима комисије; Резиме на српском и енглеском језику; Садржај; Текст по поглављима; Литературу; и Биографију аутора. Текст дисертације садржи следећа поглавља: Увод (1. - 3. стр.), Преглед литературе (4. - 10. стр.), Циљеви и задаци истраживања (11 стр.), Материјал и методе рада (12. - 41. стр.), Резултати (42. - 83. стр.), Дискусија (84. - 92. стр.) и Закључак (93. - 98. стр.). После текста по поглављима следе: Литература (99. - 113. стр.), Биографија аутора (114. - 116. стр.), Прилози (117. -141.).

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Увод – Ово поглавље састоји се из 3 потпоглавља: *1.1 Пчеларство као традиционална грана пољопривреде у Грчкој од античких времена до данас*; *1.2 Подаци о пчеларству у Грчкој данас* и *1.3 Подврсте медоносних пчела у Грчкој и њихове карактеристике*. У првом потпоглављу кандидат нас упознаје са развојем пчеларства у Грчкој кроз векове, где истиче да се у земљи из које долази пчеларством људи баве од античких времена. У другом потпоглављу кандидат нам доноси статистичке податке о пчеларству у Грчкој. Треће потпоглавље нам доноси информације о разноврсном генетском материјалу којим располаже савремено Грчко пчеларство и истакнуто је постојање и географска распрострањеност 4 подврста медонских пчела: *A. m. carnica* (на јонским острвима), *A. m. macedonica* (у Македонији и Тракији), *A. m. cecropia* (у централној и јужној Грчкој), и *A. m. adami* (на Криту и на егејским острвима).

2.2. Преглед литературе - Кандидат је у овом поглављу приказао резултате истраживања других аутора који су блиско везани за циљ и предмет његове дисертације и при томе је користио 155 извора литературе.

Доступни литературни извори су груписани и приказани у оквиру пет потпоглавља и то: *2.1. Методе за детерминисање популација пчела*; *2.2. Савремено*

пчеларство, ризици за очување биодиверзитета; 2.3. Развој популација пчела у комбинацији са фито-социолошким саставом земље и климатским условима; 2.4 Методе оцењивања развоја пчелињих друштава, њихових биолошких и продуктивних карактеристика; 2.5 Продуктивне карактеристике грчких популација пчела. У првом потпоглављу дат је веома детаљан преглед досадашњих истраживања како из области геометријске морфометрије и класичне морфометрије тако и из области генетских истраживања која су рађена у Грчкој и у свету до данас. Истакнуто је да су морфолошки карактери корисно средство за разликовање и идентификацију различитих популација медоносне пчеле, а посебан значаја међу тим карактерима имају и они који су повезани са карактеристикама крила.

У другом потпоглављу кандидат нас кроз велики број навода уводи у проблематику очувања аутохтоних генетских структура у пчеларству Грчке. Он приказује истраживања која су показала да је у нашем Балканском окружењу данас потпуно другачија генетска слика пчела него што се до скоро тврдило. Неконтролисан увоз и мешање различитих раса на простору Грчке довео је до велике разноврсности подврста медоносних пчела. На основу резултата експеримента у Грчкој, али и у осталим земљама Европе очигледно је да не постоји генетска супериорност, већ добра прилагодљивост аутохтоних популација медоносних пчела.

У трећем потпоглављу истакнут је значај локалног биљног покривача за развој пчеларства у једној земљи. Изучавање медоносних биљака директно је повезано са земљиштем и микроклимом јер њихова распрострањеност зависи од земљишно-климатских услова који с друге стране имају пресудну улогу у степену њиховог искоришћавања од стране пчела. Различите биљке имају и различити нектарни и поленски потенцијал за медоносну пчелу. Кандидат такође истиче да Грчка представља карактеристичан пример земље са богатом флором са преко 6.000 аутохтоних врсти и подврсти што све заједно утиче и на развој пчеларства у тој медитеранској држави.

У четвртном потпоглављу кандидат истиче и издваја значај квалитета матице на укупан развој и биолошку супериорност једног пчелињег друштва. Кроз навођење многих радова из ове тематике доказује се веза између физичких карактеристика матице и ефикасности пчелињег друштва користећи разне особине, као што су производња легла, производња меда, тежина пчелињег друштва и проценат преживљавања матица.

У петом потпоглављу у кратким цртама кандидат нас извештава о непостојању организованог система селекцијског рада у Грчкој и неопходности увођења одгајивачког програма за пчеле са посебним освртом на продуктивне карактеристике испитиваних популација пчела.

2.3. Циљеви истраживања – У овом кратком поглављу кандидат је нагласио главне циљеве истраживања. Они су пре свега диференцирање четири грчке популације пчела путем генетских и морфолошких показатеља и повезивање ових карактеристика са продуктивним карактеристикама матица. Такође кандидат истиче оригиналност рада кроз чињеницу да се оваква истраживања по први пут спроводе на територији Грчке.

2.4. Материјал и метод рада – Ово поглавље, кандидат је детаљно приказао кроз осам потпоглавља и то: *4.1 Изабране популације медоносних пчела; 4.2 Клима у областима порекла матица; 4.3 Формирање експерименталних пчелињих друштава; 4.4 Фитоценолошки састав у региону посматрања пчелињих друштава; 4.5 Карактеристике квалитета матица; 4.6 Производне особине и особине понашања; 4.7*

Анализа морфометријских параметара медоносне пчеле; 4.8 Анализа генома медоносне пчеле и 4.9 Статистичка обрада и анализа

У првом потпоглављу кандидат је представио изабране популације медоносне пчеле и критеријуме избора истакавши да су изабране популације географски међусобно удаљене више од 100 километара.

У другом потпоглављу је представљена клима у областима порекла матица односно у области Арте, Ларисе, Касторије и Халкидикија. Истакнуте су разлике у клими и карактеристике биљног покривача.

У трећем потпоглављу истиче се да је истраживање обављено на формираном пчелињаку у Институту за пчеларство у Неа Моуданији у Грчкој. Испитивања матица су обављена у току две пчеларске године, од априла 2009 до априла 2011 године. У свакој групи је испитивано по 15 матица. Десет од њих (односно из сваке групе) је настањено у кошнице ЛР типа, и формирано је 10 нових пчелињих друштава (тј. укупно 40 из 4 групе). Новоформирани ројеви су били постављени са летима окренутим ка источној страни света. Осталих 5 матица је коришћено за дисекцију и утврђивање броја овариола и пречника сперматека, метода која је поновљена и на крају експериментата на преживелим матицама. Код новоформираних ројева су праћене производне особине и развој пчелињих друштава, четири пута годишње (април, мај, септембар и октобар) у току обе године истраживања. У току истраживања ројеви су били прихрањивани шећерним погачама (10 kg/ кошници преко зиме) и шећерним сирупом (15 kg/кошници у пролеће). Третман против варое је обављан два пута годишње, једном у новембру перизиним (препарат: Coumaphos) без присуства легла и једном у јулу оксалном киселином.

Да би се забележио фитосоциолошки састав региона, усликане су пчеле које су посећивале. цветове медоносних биљака у кругу од 1000 метара око Института у току 2009. године.

Из метеоролошког заклона инсталираног у Институту за Пчеларство, добијени су подаци о временским условима за месеце март, април и мај 2010 и 2011, и то: максималне $T(\max)$ и минималне $T(\min)$ дневне температуре, просечна дневна температура (T_0), просечну дневну влажност $Ave(H)$ и количина дневних падавина (Rainfall).

У четвртном потпоглављу детаљно су приказана имена биљних врста (са латинским називима), фамилија, доступност пчели и период цветања са одговарајућом фотографијом за сваку медоносну биљну врсту.

У петом потпоглављу је приказана методологија при анатомским истраживањима. Пет матица (од укупно 15) из сваке популације је употребљено за анатомске анализе, укључујући дисекцију и утврђивање броја овариола и пречника сперматека.

Дат је и опис ових метода:

- За анатомију матице коришћен је Insect Saline solution (7.5 gr. NaCl, 2.38 gr. Na_2HPO_4 , 2.72 gr. KH_2PO_4 и 1 литру дестиловане воде)
- Десни оваријум је уклоњен и потопљен у бојени раствор (0.1 gr. Coomassie brilliant blue R250, 45 ml метанола , 10 ml сирћетне киселине и допуњава се дестилованом водом до 100 ml)
- Потом је постављен на чисту микроскопску плочицу и испран помоћу 35% етил алкохола.
- Оваријум је скалпелом пресечен вертикално на два дела. Бројање овариола је обављено под микроскопским увећањем од 20x.
- Затим је нађена сперматека и фотографисана објективом 2x

Два насумично одабрана пречника су мерена и њихов просек је израчунат уз помоћ софтвера за анализу слике микроскопа (*Image Pro Plus*). За праг при мерењу пречника сперматека је постављена мера од 1,2 мм. Мерење је обављено под увећањем од 200х. Свака особина је упоређивана са стандардним вредностима, које су одређене од стране акредитоване лабораторије. Према овим критеријумима, матице се сматрају квалитетним, када број овариола превазилази 130 у сваком оваријуму и кад је пречник сперматека већи од 1,2 мм.

У шестом потпоглављу кандидат је приказао методологију рада код производних особина и особина понашања. Мерење продуктивности, понашања и развоја пчела је обављано у току две године са фреквенцијом од четири пута годишње, у априлу, мају, септембру и октобру. Коришћени су посебни обрасци где су уписиване следеће особине: број одраслих пчела, број ћелија са леглом, број ћелија са медом, број ћелија са поленом, продуктивност пчелињих друштава (унос нектара), склоност ка ројењу, хигијенско понашање и симптоми присуства болести (нозема, вароа). Контроле експерименталних друштава (пчела, легло, мед и полен) су вршене осам пута у току две године истраживања. Сви рамови су вађени појединачно и процењени методом (*Кулинчевић и сар., 1990*) по којој се вредност изражава у 1/10 оквира пчела, легла, меда и полена. Рам који је потпуно запоседнут пчелама, односно леглом, медом или поленом оцењиван је оценом 1. Прерачунавање на укупан број пчела и укупан број ћелија са леглом, медом и поленом вршено је "*Liebefeld*" методом. Процењени број рамова са пчелама је множен са коефицијентом 2300, а процењени бројеви рамова са леглом, медом и поленом множени су са 7000 (*Imdorf et al., 1987*).

Продуктивност пчелињих друштава или унос медљике је мерен у kg два пута током периода истраживања 9.10.2009 и 12.10.2010, коришћењем модификоване методе *Szabo* (*Szabo, 1982*). Мерена је тежина сваке испитиване кошнице уз помоћ потезне електронске ваге, првог и трећег дана од почетка лучења слатког секрета, истим редоследом обе године. За главну паша је одабрано лучење бора, јер је то најстабилнији извор меда у грчком пчеларству. Око 65% укупне производње меда у Грчкој чини боров мед. Мед се добија лучењем секрета штитасте ваши *Marchalina hellenica*, познатог као "радилица", „микроб“ или „паразит“ бора. Ова врста је присутна у многим крајевима Грчке, а пре свега на Тасосу, Халкидикију, Еубеји, Скопелосу, Скијатосу, Закинтосу, Родосу, Криту и др.

Склоност ка ројењу представља непожељну карактеристику медоносне пчеле. Пчелиња друштва су оцењивана на основу раније развијеног система од 4 бода, у складу са међународним препорукама симпозијума Апимондије одржаног у Лунцу 1972 године. Распон је од оцене 1 која се приписује најслабијим пчелињим друштвима, до оцене 4 која се односи на најбоља пчелиња друштва.

Хигијенско понашање пчела сј процењивано „*pin killed*“ методом. Лабораторијском иглом No 1 је пробушено 50 затворених ћелија (које садрже младе ларве са белим или црвенкастим очима) и лутке су убијане. После 24 и 48 сати је проверен број очишћених ћелија. Већи проценат уклањања мртвих ларви значи и веће хигијенско понашање пчела. Метода је извођена у другој декади маја у обе године истраживања.

Узорци пчела за вароу су прикупљани два пута годишње, у септембру и у новембру исте године, кад су пчеле имале мало легла. Након прикупљања, узорци су стављени у замрзивач у индивидуалним посудама. Мерење варое код одраслих пчела је извршено на следећи начин: у сваку посуду је стављено 20% алкохола до нивоа који покрива пчеле; свака посуду је мућкана неколико секунди; пчеле су потом стављене у цедиљку, а она у празну посуду; пчеле су опране водом, а потом пребројане ван посуде. Вароа је измерена у посуди са водом и алкохолом. Затим је израчунат проценат

варое по формули $\alpha * 100 / \beta$ где је α = избројане варое, β = број пчела у узорку. Сматра се да проценат од 10 % представља границу за опстанак друштва.

Узорци одраслих пчела су прикупљени из удаљених оквира пчелињег друштва за тест на ноземозу. Прикупљање је обављено у септембру, новембру и следећег пролећа сваке године. Пребројавање спора ноземозе је извршено по следећем протоколу:

- Исецање стомака и њихово дробљење уз додавање 6 ml воде
- Филтрирање
- Испирање са још 3 ml воде
- Разређивање 3 ml оригиналног узорка у 5 ml воде (1/3 почетног узорка)
- Испирање са још 4 ml воде
- 10 мин центрифугирања на 7000 rpm
- Уклањање талога
- Додавање 3 ml воде
- Хомогенизација узорка на 40 Hz у трајању од 2 min
- Стављање 10 ml мешавине на хемоцитометар
- Процес мерења спора у 0,1 ml течности
- Мерење спора хемоцитометром (25 т)

Број спора је измерен у одређеној запремини течности од 0,1 ml, и помножен је са разблаживањима. Обрачун укупног броја спора је извршен у складу са формулом $90.000 * a / b$, где је a број спора у 25 квадрата хемоцитометра, а b број пчела у узорку. (Узимајући у обзир да је a број спора у 0,1 ml течности, онда је у 3 ml коначног узорка број спора $30.000 * a$, док је у почетном узорку број спора $3 \times 30.000 * a = 90.000 * a$. Свака пчела садржи $90.000 * a / b$ спора, где је b број пчела).

У седмом потпоглављу кандидат је навео методе за утврђивање морфометријских параметара испитиваних популација медоносних пчела. За утврђивање морфометријских параметара испитиваних линија, током извођења огледа је узето по 15 пчела из сваког пчелињег друштва. На тај начин је укупно сакупљено 150 пчела по испитиваној популацији (укупно 600 пчела из 4 популације). Сакупљени узорци пчела су употребљени за утврђивање параметара класичне и геометријске морфометрије у два понављања.

Класична морфометријска анализа је обухватила мерење 12 морфолошки информативних карактера-параметара (на левом предњем и задњем крилу и левој нози): дужина предњег крила, ширина предњег крила, дужина радијалне ћелије (а), дужина дискоидне ћелије (б), кубитални индекс (а/б), дужина задњег крила, ширина задњег крила, дужина бута задње ноге, дужина голењаче задње ноге, дужина базитарсус – а, ширина базитарсус – а и дужина језика. Дисекција пчела је обављена пинцетом и ентомолошком иглом, а дисековани делови су фиксирани на привременим микроскопским препаратима. Параметри су се мерени на сликама добијених на Leica стереомикроскопу. За сликање је коришћен фото апарат Canon Power Shot A490, са жижном даљином од 7 mm. Мерење свих параметара је извршено на основу добијених слика помоћу програма Motic Images Plus 2.0, калибрација је извршена окуларном плочицом са мрежицом 15×15 mm.

За геометријску морфометрију је дисековано десно предње крило свих сакупљених пчела. Узето је по 15 пчела из сваке кошнице што значи 150 радилица из сваке испитиване популације, што је укупно 600 радилица из 40 кошница, два пута у току две године истраживања. Привремени препарати сваког друштва, су прављени потапањем сакупљених крила једног друштва у серију раствора етанола различите концентрације. Коришћени су раствори следећих концентрација: 95 %, 70 %, 50 % и 20 %. Након серије раствора етанола, крила су смештана у дестиловану воду после чега су

фотографисана. Сlike крила добијене су фотоапаратом стављеним на микроском са објективом 1x. Координате 19 обележја које се налазе на тачкама укрштања вена снимљене су и дигитализоване су дводимензионалне x, y картезијске координате идентификованих обележја помоћу TPSdig програма. Поступак је обављен два пута за свако крило и израчунат је просек како би се смањила могућност грешке приликом мерења. Координате обележја добијене помоћу TPSdig употребљене су у MorphoJ софтверском пакету. Сврставање је извршено коришћењем Прокрустовог подешавања (*Прокрустове суперимпозиције*). Коришћена је Прокрустова анализа (*GPA*), тренутно један од стандардних метода за анализу података обележја. Израчуната је Прокрустова дистанца, мера апсолутне величине одступања облика и примењена је Канонијска анализа (*Canonical Variate Analysis*). Метод бесконачно танке плоче коришћен је за илустровање трансформација облика крила.

У осмом потпоглављу дате су методе генетских испитивања. У циљу утврђивања генетских разлика између испитиваних популација обављене су две генетске анализе: алоензимска анализа и анализа митохондријалне ДНК (mtDNA). За ове анализе, у 2010 године из сваког пчелињег друштва је узето између 5 и 10 пчела радилица.

У циљу испитивања генетских сличности и разлика међу линијама испитиване су разлике у алоензимском саставу. Преко одговарајућих генетских локуса је праћено шест ензимских система: MDH-1; ME; EST-3; ALP; PGM; HK. Хомогенизација торакса и електрофореза у полиакриламидном гелу је обављена по методи *Ivanova (1996)*. Пуфери и електрофоретски услови су били прилагођени за сваки ензимски систем према *Boyer (1961)*, *Gahne (1967)*, *Shaw and Prasad (1970)* и *Ivanova (1996)*. Ензимска активност је утврђивана помоћу хистохемијске обојености према *Harris and Hopkinson (1976)*, алозими су се диференцирали према покретљивости ка аноди.

Употребом софтверског пакета BIOSYS-1 (*Swofford and Selander, 1981*) су утврђене фреквенције алела, просечан број алела по локусу, пропорција полиморфних локуса на нивоу од 95 %, очекивана хетерозиготност, одступања од Хајди-Вайнбергове равнотеже и *Heu*-еве генетичке дистанце. Дендрограми су добијени методама UPGMA (*Sneath and Sokal, 1973*) и NJ (neighbor-joining) (*Saitou and Nei, 1987*) употребом софтверског пакета PHYLIP (*Felsenstein, 1993*).

За додатну потврду разлика међу популацијама узети су узорци од првих радилица које је свака од матица произвела и послани су у Лабораторију за пољопривредну зоологију и ентомологију, Пољопривредног Факултета у Атини, на митохондријалну ДНК анализу. За утврђивање разлика испитиваних линија према мтДНК коришћене су молекуларне секвенце три гена на ланцу мтДНК и то 16S rDNA, COI и ND5. Коришћена је метода PCR-RFLP (*Bouga et al. 2005*) са три сета прајмера за амплификацију сваког од наведених генских региона. Узети су следећи прајмери за следеће сегменте:

5'-CAACATCGAGGTCGCAAACATC-3' и 5'-GTACCTTTTGTATCAGGGTTGA-3'
за 16S rDNA

5'-GATTACTTCCTCCCTCATTA-3' и 5'-AATCTGGATAGTCTGAATAA-3'
за COI

5'-TCGAAATGAATAGGATACAG-3' и 5'-GGTTGAGATGGTTTAGGATT-3'
за ND5

Обрада резултата обављена је уз помоћ софтверског пакета *GenAlEx (Peakall, and Smouse, 2012)*.

Појединачне секвенце утврђене су аутоматским секвенционирањем оба соја мтДНК генског сегмента које је доставила CEMIA Company (Лариса, Грчка). Подлоге у реакцијама секвенционирања биле су исте као и у поступку амплификације. Помоћу

CLUSTALW2 (Thompson et al., 1994) извршена су поравнавања вишеструких фреквенција коришћењем предодредђених параметара, а компјутерски извршено поравнавање даље је кориговано ручно. Такође, поравнавање података верификовано је по секвенцама узорака *A. mellifera* који се могу наћи у NCBI.

У деветом потпоглављу кандидат је приказао статистичке анализе које су коришћене у истраживању. За анализе анатомских карактеристика матица (карактеристика квалитета) употребљен је One-Way ANOVA метод, узимајући као основни чинилац четири различита генотипа (популације). За анализу продуктивности и особина понашања коришћене су General Linear model, односно Анализа варијансе (*Variance analysis method*), узимајући као факторе годину, популације и период. Све анализе, као и графички прикази, су направљене уз помоћ статистичког пакета SPSS v19.

2.5. Резултати истраживања – Резултати испитивања приказани су у оквиру четири поглавља и више потпоглавља. Табеларни приказ резултата је прегледан, текстуални део је јасан и концизан.

2.5.1. Карактеристике квалитета матица – Матице са подручја Ларисе су имале више овариола (152,3) и сперматеку већег пречника (1331,22), док су матице са подручја Касторије имале мање овариола (138,1). Матице из Арте су у просеку имале мањи пречник сперматеке (1223,534). Матице са Халкидикија имају незнатно мање празних ћелија (1,31) од матица из осталих региона. Такође, карактеристично је да је просек свих контролисаних особина легла био у границама „квалитета матица“ које су прописане од стране Акредитоване лабораторије Института за пчеларство из Неа Моудание. Статистичка анализа није показала значајне разлике између испитиваних популација ни за једну од горе наведених карактеристика.

2.5.2. Производне карактеристике и карактеристике понашања – Просечан број пчела код испитиваних популација се кретао од 10.000 (Арта у мају) до чак 30.000 (Халкидики у априлу) у току прве године, и од 5.000 (Арта, Касторија и Лариса у априлу) до чак 22.000 (Халкидики у септембру) у току друге године, разлика између две године је била статистички значајна ($p < 0,05$). Статистичка анализа је показала да су постојале статистички значајне разлике међу испитиваним популацијама ($p < 0,05$) и да су се пчелиња друштва из испитиваних региона понашале на исти начин у току обе године. Статистичка анализа је показала да су разлике у броју ћелија са леглом међу испитиваним регионима биле статистички значајне ($p < 0,05$). Статистички значајна је била, такође, и разлика у броју ћелија са медом ($p < 0,05$) између периода посматрања при чему се у октобру и у септембру јављао највећи број ћелија са медом. Слично броју пчела, и броју ћелија са леглом, и број ћелија са медом је у другој години био скоро упола мањи у односу на прву годину (17.000, односно 27.000 ћелија). Статистички значајна је била, такође, и разлика у броју ћелија са поленом ($p < 0,05$) између периода испитивања, при чему се у октобру јављао најмањи, а у септембру највећи број ћелија са поленом. Разлика у маси кошница у периоду од три дана као показатељ продуктивности испитиваних пчелињих друштава показује да нису постојале разлике између година, већ да су постојале значајне разлике међу испитиваним популација пчела ($p < 0,05$), при чему Халкидики предњачи у односу на остале (2,225 kg).

Склоност ка ројењу код испитиваних пчелињих друштава за две године посматрања показује разлике међу годинама испитивања, али и међу испитиваним регионима. У другој години су све популације показале повећану склоност ка ројењу, при чему се на Халкидикију јавља мања склоност (3,2), а у Лариси већа склоност ка ројењу (2,05).

Хигијенско понашање пчелињих друштава у току 24 и 48 часова се кретало од 34-64%, односно од 47-85%. Разлике између година нису биле значајне, али су постојале значајне разлике између испитиваних популација ($p < 0,05$), при чему се у Лариси и на Халкидикију јавља највећи (60,5% и 83,8% односно 52% и 70,133%), а у Арти најмањи проценат (34,6% и 51,8%) очишћених ћелија мртвог легла за 24, односно 48 часова.

Присуство варооа је било много већа у првој години него у другој години истраживања и проценат инвадираности се кретао од 16,6 до 19,9% у 2009, односно 2,2 до 4,2% у 2010. години. Разлика између година је била статистички високо значајна ($p < 0,01$) (просек за 2009 био је 18,6 %, а за 2010 био је 3 %), али нису утврђене значајне разлике између испитиваних популација.

Инфестирани ноземом кретао се од ниских вредности (150.000 спора по пчели) до веома високог нивоа (10,700,000 спора по пчели), али без великих последица по испитивана пчелиња друштва. Статистичка анализа је показала да није било значајних разлика између испитиваних популација, али је било веома велике разлике између времена узорковања, са највишим нивоима заразе у септембру.

2.5.3. Анализа генома – Код изоензимске анализе ензимски системи MDH-1, ALP, PGM и HK код грчких популација били су полиморфни, а неки од њих су примећени само код одређених популација. Просечан број алела по локусу је 2,5 међу грчким популацијама (Лариса II, Халкидики, Касторија). Посматрани и очекивани број хетерозигота (H_o и H_e) кретао се од 0,161 (Грчка – Лариса I) преко 0,276 (Грчка – Халкидики) до 0,335 (Грчка – Арта). Из горе наведених података очигледна је јасна разлика међу тестираним грчким популацијама, и стога их у циљу даље карактеризације можемо посматрати као засебне екотипове. Ова анализа је показала да је популација из Ларисе веома хомогена и да је могуће да припада врсти *A. mellifera cecropia*, док остале популације, иако међусобно различите, могу припадати врсти *A. mellifera macedonica*, пореклом из северне Грчке.

Анализа главних компоненти на 16s рибозомалном гену показала је да се пчеле из Ларисе разликују од пчела Халкидикија као и да су генетски изузетно далеке од пчела из Арте и Касторије. Популација пчела из Касторије се такође састоји од две подпопулације: једне која је слична пчелама Арте а друга, иако различита, генетски веома блиска пчелама из Арте. Конструисани дендрограм такође потврђује наведене резултате. Популација пчела из Ларисе је у другачијој класи од осталих, а притом су пчеле Халкидикија веома блиске пчелама Касторије, док су пчеле из Арте мало удаљеније од обе популације пчела. Анализа гена COI (Цитохром ц оксидаза), је такође показала да је популација пчела из Ларисе удаљена од свих осталих популација које су, и ако формирају засебне групе, веома блиске једна другој. Израчуната генетска удаљеност потврђује да је популација пчела из Ларисе издвојена од осталих. Међутим, УПГМА дендограм илуструје да се само један део популације пчела из Халкидикија налази у класи одвојеној од осталих. Трећи ген, ND5, је показао другачије резултате. Популација пчела из Арте се разликује, од осталих популација. Из друге две групе, у првом случају, популација пчела из Ларисе је централна популација док су популације пчела Халкидикија и Касторије пратеће, а у другом је популација пчела из Халкидикија централна популација док је популација Касторије пратећа. Један део популације пчела из Халкидикија и један део популације пчела из Касторије су у генетском погледу доста удаљене од осталих популација. Резултати генетске удаљености, који се односе на ND5 и COI гене, сличнији су међусобно, а мање су слични резултатима добијеним на основу анализе 16s рибозомалног гена. Осим тога, поређење редоследа основа свих популација са онима који постоје у NCBI су показали да је Лариса популација нова и

да је у приличној мери удаљена од свих осталих медоносних пчела у Грчкој које постоје у банци гена.

Према канонична анализа варијансе величине крила популације пчела из Арте, Халкидикија и Ларисе су хомогеније него популација пчела у Касторији, јер су узорци из обе године истраживања у опадању у истој области каноничних оса. Увидом у дијаграм промене облика крила, добијених преко MorfoJ програма, постаје јасно да је код популације пчела из Касторије већа деформација просечног облика крила у поређењу са укупним просечним обликом крила свих популација. Арта популације (за обе године), Халкидики (за обе године) и Касторија (за 2010. годину) формирају три одвојене групе са понеким сличностима (преклапање). Осим тога, испитивана популација Лариса спада негде између ових група а углавном у оквиру области Халкидикија, стога је немогуће разликовати их, док подпопулација Касторије за 2009. годину, формира потпуно одвојену групу, удаљену од осталих група.

2.5.4. Класична морфометрија –Анализе су вршене одвојено за обе године истраживања. Пре спровођења канонијске дискриминационе анализе, урађена је мултиваријантна анализа да би се проверило да ли постоје разлике између анализираних група и да би се потврдила оправданост даљих анализа. Резултати MANOVA анализе су:

- за 2009. годину: Wilks' Λ : 0,853, F (30,1723) = 3,199, $p < 0,001$.

- за 2010. годину: Wilks' Λ : 0,531, F (30,1723) = 13,824, $p < 0,001$.

Вредности Махаланобисових дистанци нису високе, нарочито у анализама према години истраживања, док су нешто веће у збирним анализама и анализама по линијама пчела. Успешност класификације је релативно ниска у обе године истраживања: 2009 (38,83%) и 2010 (54,33%). Карактери који највише доприносе оваквој класификацији су на канонијским осама (CV 1, 2 и 3) са вредностима већим од $\pm 0,3$.

Прилично успешној дискриминацији популације пчела из Арте и популације из Касторије у 2009. години (CV1, 56,1% варијабилности) највише доприносе следећи карактери: дужина предњег крила, а/б, дужина базитарзуса, дужина тибие и ширина задњег крила. Дискриминација линија на другој канонијској оси (CV2, 27,2% варијабилности) је прилично слаба, а уочљиво је раздвајање популације пчела из Ларисе од осталих испитиваних популација пчела. Оваквом одвајању доприносе следећи карактери: ширина задњег крила, дужина базитарзуса, дужина тибие. Трећа канонијска оса (CV 3) описује свега око 16,7% варијабилности, и није узета у даље разматрање.

Према УПГМА дендрограму популација пчела из Арте се издваја у посебну грану у односу на остале три популације пчела. Такође, међу осталим популацијама, постоји морфолошка сличност између популација из Халкидикија и Касторије које су јасно раздвојене од популације из Ларисе. Међусобно делимичној дискриминацији линија пчела Касторија и Лариса са једне стране и Арта и Халкидики са друге стране у 2010. години на првој канонијској оси (CV1, 65,5% варијабилности) највише доприносе следећи карактери: дужина и ширина предњег крила, дужина базитарсуса и дужина фемура. Дискриминација линија Касторија и Халкидики са једне стране и Арта и Лариса са друге стране на другој канонијској оси (CV2, 24,5% варијабилности) је прилично слаба, тако да није уочљиво јасно раздвајање ових линија пчела. Карактери који доприносе том слабом раздвајању су: дужина предњег и задњег крила и ширина базитарсуса. Трећа канонијска оса (CV3) описује око 10% варијабилности, и на њој се посебно не издвајају карактери који доприносе раздвајању група.

Резултати ове дискриминације показују да су класични (измерени на телу, телесни) морфометријски карактери мање важни за успешну дискриминацију

селекционисаних линија, у обе године истраживања. Само неки од телесних карактера успешно одвајају испитиване линије пчела.

2.6. Дискусија – Дискусију својих резултата, кандидат је водио правилно, анализирајући и објашњавајући своје резултате уз упоређивање са резултатима других аутора.

На основу задатих граничних вредности испитиване матице су биле „добре“ и у целини испољавају анатомске карактеристике матица које се производе у комерцијалне и некомерцијалне сврхе у Грчкој. У овом истраживању производња меда је била интензивнија у јесењим месецима, што је карактеристично за област Халкидикија. Подручје Халкидикија нема посебно велики развој у пролеће, али располаже великим површинама под боровом шумом, а највећа производња боровог меда је у јесен и то у октобру. Ово је утицало на све четири испитиване популације пчела без обзира на њихово географско порекло. Наравно, један од фактора који утичу на склоност пчела ка сакупљању нектара је и генетска предиспозиција пчела. Зато је популација пчела са Халкидикија интензивније сакупљала мед. Остале популације пчела су имале нешто слабији унос нектара. Наравно, постоје доста разлика у распону осцилација међу испитиваним популацијама, али то је и очекивано пошто се ове популације пчела нису добијене из истог генетског материјала нити под истим условима. Одступања од општег тренда развоја су мала, при чему су наглашенија одступања код популације Арта. Ројидбени нагон је карактеристика која се разликује се од расе до расе. Међутим, услови узгоја, репродукције и пчеларске праксе играју велику улогу у мањој или већој изражености ове особине. Карактеристична појава је код популације из Ларисе која потиче са пчелињака где узгој матица није обављан систематски као код осталих и то је резултирало повећаном склоношћу ка ројењу. Према хигијенском понашању утврђене су разлике између испитиваних популација, при чему популација из Арте показује најмању способност препознавања мртвог легла. Најбоље резултате показала је популација пчела из Ларисе. Примећено хигијенско понашање није повезано са процентом инфекције вароом или ноземозом, с обзиром на то да ове популације не потичу из програма систематског узгоја чији је циљ отпорност или толеранција, пре свега на вароу, као што се вероватно десило у другим земљама или популацијама.

У овом раду су употребљене четири различите популације пчела које потичу из поприлично различитих области континенталне Грчке. Изоензимска анализа је направила разлику између испитиваних популација пчела и сврстала их на једној широј грани са пчелама Бугарске.

На основу гена 16S, популације пчела из четири испитивана региона су јасно раздвојене, а посебно пчеле из Ларисе и Арте. Пчеле из Касторије и Халкидикија личе на различите популације пчела, али су на малој међусобној удаљености, што су резултати слични онима добијеним након изоензимске анализе. Другачији приступ истом гену потврђује велику удаљеност популације пчела из Ларисе (популација Централне Грчке) у односу на остале, али ставља остале испитиване пчеле на једну грану (популације Македонског региона), као што то карактеристично наводе и други истраживачи.

Примена Анализе главних компоненти (Principal Component Analysis) на гену COI, потврдила је велику удаљеност популације пчела из Ларисе у односу на остале, као и веома блиске, сродне удаљености између осталих популација. Међутим, приступ генетичких дистанци показује различите резултате тако што се само један део популације пчела са Халкидикија разликује, док се сви остали налазе веома близу један другом, скоро да се преклапају.

На основу анализе урађене по Анализи главних компоненти ND5, јавља се различито издвајање популација у односу на два претходна гена: популација пчела из Арте се јавља као најудаљенија од свих, популација пчела из Ларисе се, такође, издваја и доминира на другој страни, један део пчела са Халкидикија формира одвојену групу, док се други делови ове популације и популације пчела из Касторије међусобно преплићу. Мерење генетичких дистанци међу популацијама показује да су део Халкидикија и део Касторије другачији од осталих. На крају, заснивајући се на открићима Gene Bank-е, резултат потврђује издвајање популације из Ларисе од осталих, можда чак и као другачије подврсте (*A.m.cecropia*, у поређењу са *A.m.macedonica*).

Анализа карактеристика геометрије крила је показала да постоје разлике, али и многе заједничке тачке међу популацијама. Популације пчела из Касторије, Халкидикија и Арте би се могле разликовати на основу геометријске морфометрије, али не и популација пчела из Ларисе, која по овим карактеристикама представља део популације са Халкидикија. Део генетског материјала из Касторије показује разлике између два узимања узорака. Геометријска морфометрија као метод указује на генетске разлике које се наслеђују и од трутова и од матица и, на тај начин, карактеристике које се нису испојиле при једном узимању узорака, могу се испојити у следећем, што указује на велику генетичку удаљеност између трутова којима су матице оплођене. Такође, деформација облика крила у односу на просек популације потврђује велико одступање дела ове популације од осталих.

На основу морфолошких и генетских разлика нађених међу популацијама и корелација и генетских дистанци међу њима, може се рећи да ове популације пчела представљају две шире групе, популацију из Ларисе (вероватно потомак *A. m. cecropia*) и популацију македонске пчеле која се јавља у три различита екотипа (Касторија, Арта и Халкидики – екотипови *A. m. macedonica*). Обе шире групе одговарају почетном разграничавању због географског порекла. Популација из Ларисе као цекропија пчела или пчела централне и јужне Грчке и македонска пчела као пчела северне Грчке.

2.7. Закључак - На основу добијених резултата кандидат је извео закључке које је приказао по групама испитиваних особина.

- Нису пронађене статистички значајне разлике међу испитиваним матицама ни у једној проучаваној особини квалитета, чињеница која дозвољава да закључимо како свака разлика у развоју кошница не произилази из анатомских карактеристика, већ вероватно из способности прилагођавања локалним условима.
- Мада статистички разлике међу популацијама нису биле значајне, препознаје се тенденција да се код популације пчела из Ларисе јављају већи број овариола и пречник сперматеке него код осталих.
- Карактеристична је чињеница да је популација са Халкидикија сакупљала највеће количине полена. Овај податак нам указује на најбољу прилагодљивост ове популације пчела локалним условима.
- Популација пчела са Халкидикија је са највећим бројем ћелија легла и највећим бројем одраслих пчела. Пчеле из Касторије су по броју пчела и ћелија са леглом одмах иза популације пчела из Халкидикија, док су пчеле из Арте и Ларисе имале најмањи број ћелија са леглом и најмање пчела.
- Продуктивност изражена сакупљањем меда је била интензивнија у јесењим месецима, што је повезано са медоносним биљкама на подручју Халкидикија.
- Популација пчела са Халкидикија је имала највећу продуктивност у меду док су све остале испитиване популације пчела биле са слабијом продуктивношћу.

Степен прилагодљивост ове популације је веома карактеристичан и издваја ову групу пчела као посебан екотип.

- Карактеристична је појава велике ројивости код популација пчела из Ларисе која потиче са пчелињака где узгој матица није обављан систематски као код осталих испитиваних популација пчела.
- Код хигијенског понашања пчелињих друштава појавиле су се разлике између испитиваних популација, при чему су пчеле из Арте испољиле најслабије хигијенско понашање и најмању способност препознавања и чишћења мртвог легла.
- Примећено хигијенско понашање није повезано са процентом инфекције вароом или ноземозом, с обзиром на то да испитиване популације пчела не потичу из планског узгоја и репродукције пчела чији је циљ отпорност на пчелиње болести.
- Изоензимска анализа је направила разлику између испитиваних популација и сврстала их на једној широј грани. Могуће је да испитиване грчке популације пчела представљају две шире групе, група пчела из Ларисе (вероватно пореклом од *A. m. cecropia*) и групе македонске пчеле која се јавља у три различита екотипа (Касторија, Арта и Халкидики – екотипови *A. m. macedonica*). Популација из Ларисе као цекропиа пчела или пчела централне и јужне Грчке и македонска пчела као пчела северне Грчке.
- Налази из банке гена потврђују да се испитиване популације пчела из Ларисе разликују од осталих популација пчела.
- Испитиване популације пчела из Касторие, Халкидикија и Арте би могле да се разликују по резултатима геометријске морфометрије.
- Анализирањем просечних мерених вредности за поједине морфометријске параметре за период у 2009. години утврђено је да највише минималних димензија мерених параметара имају пчеле које припадају популацији Ларисе. Чак у пет од дванаест анализираних обележја популација из Ларисе је показала минималне димензије (дужина предњег крила 9,164 цм, ширина предњег крила 3,116 цм, дужина странице а 0,571 цм, односно странице б 0,232 цм и дужина базитарсуса 2,039 цм). У 2010. године највише минималних димензија мерених параметара имају пчеле које припадају популацији пчела из Арте и то такође у пет од дванаест анализираних обележја (дужина предњег крила 9,223 цм, ширина предњег крила 3,173 цм, ширина базитарсуса 1,157 цм, дужина задњег крила 6,725 цм и ширина задњег крила 1,974 цм).
- Највише максималних вредности је утврђено мерењем морфометријских параметара пчела из популације Арте 2009. године у пет од дванаест анализираних обележја (ширина предњег крила 3,136 цм, дужина странице б 0,242 цм, дужина базитарсуса 2,069 цм, ширина базитарсуса 1,201 цм, и ширина изадњег крила 1,887 цм). У 2010. године највише максималних димензија мерених параметара имају пчеле које припадају популацији пчела из Касторије (дужина странице б 0,226 цм, дужина језика 5,929 цм, дужина базитарсуса 2,067 цм, ширина базитарсуса 1,182 цм и дужина задњег крила 6,807 цм).
- Највеће вредности за кубитални индекс утврђене су код популације пчела из Ларисе, у узорку из 2009. године (2,499 цм), и код популације пчела из Халкидикија (2,762 цм) у узорку из 2010. године. Намање вредности за кубитални индекс су утврђене код пчела из популације пчела из Арте у узорку из 2009. године (2,408 цм) и код популације пчела из Касторије (2,547 цм) у узорку из 2010. године.

- Прилично успешној дискриминацији популације пчела из Арте и популације из Касторије у 2009. години (CV1, 56,1% варијабилности) највише доприносе следећи карактери: дужина предњег крила, а/б, дужина базитарзуса, дужина тибије и ширина задњег крила. На основу квадрираних Махаланобисових дистанци, кластер анализом конструисан је УПГМА дендрограм на коме се јасније уочавају сличности и разлике између истраживаних линија пчела. Популација пчела из Арте се издваја у посебну грану у односу на остале три популације пчела. Такође, међу осталим популацијама, постоји велика морфолошка сличност између популација из Халкидикија и Касторије које су јасно раздвојене од популације из Ларисе.
- Међусобно делимичној дискриминацији линија пчела Касторија и Лариса са једне стране и Арта и Халкидики са друге стране у 2010. години на првој канонијској оси (CV1, 65,5% варијабилности) највише доприносе следећи карактери: дужина и ширина предњег крила, дужина базитарсуса и дужина фемура. На основу квадрираних Махаланобисових дистанци, кластер анализом конструисан је УПГМА дендрограм, на коме се јасније уочавају сличности и разлике између истраживаних географских група пчела. Популације пчела из Арте и Халкидикија се посебно групишу и раздвајају од популација пчела из Касторије и Ларисе.
- Ово истраживање је показало да је веома важно да се евидентирају карактеристике различитих екотипова пчела са што више детаља, како би се извршила њихова што потпунија карактеризација.
- Даља евиденција и праћење специфичних карактеристика различитих екотипова медоносних пчела Грчке ће нам пружити неопходна сазнања која ће нам помоћи да се испитиване популације одрже и да се даље репродукују, јер само локалне популације пчела сигурно и успешно презимљавају, производе више пчелињих производа и отпорније су на болести пчела и пчелињег легла.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација *дипл. инж. Леонидаса Харистоса* представља самостални научни рад у области одгајивања и селекције медоносне пчеле. Тема докторске дисертације је актуелна и значајна за науку и праксу јер је кандидат испитивао морфолошке, генетске и производне карактеристике различитих географски удаљених популација медоносне пчеле Грчке. Он је испитивао четири популације пчела из Грчке, које су припадале различитим географским областима. С друге стране, актуелност истраживања се огледа у бројним истраживањима генома пчела са поднебља Грчке. Кандидат је систематски проучио резултате истраживања других аутора, дефинисао предмет и програм испитивања, поставио циљ, основне хипотезе, спровео истраживања, прикупио податке, применио адекватне статистичке методе за анализу и оценио добијене резултате. Добијени резултати показују да је популација из Халкидикија показала најбоље производне резултате. Све испитиване групе пчела се међусобно разликују. Кандидат је користио више различитих модела и метода како би детерминисао разлике у морфометријским и генетским карактеристикама испитиваних популација медоносних пчела. Резултати које је добио кандидат значајни су за одгајивачко селекцијски рад и унапређење пчеларске производње и од велике су користи за практично пчеларство Грчке.

Истраживања у овој докторској дисертацији су урађена у сагласности са планом и програмом који је предложен у Пријави.

На основу свега изнетог, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију дипл. инж. Леонидаса Харистоса под насловом **"МОРФОЛОШКЕ, ГЕНЕТСКЕ И ПРОИЗВОДНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ПОПУЛАЦИЈА МЕДОНОСНИХ ПЧЕЛА (*Apis mellifera* L.) У ЗАВИСНОСТИ ОД САСТАВА ФИТОЦЕНОЗА СЕВЕРНЕ И ЦЕНТРАЛНЕ ГРЧКЕ"** и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену и омогући кандидату јавну одбрану.

Чланови Комисије:

Др Мића Младеновић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет, Београд –
Земун

Др Радица Ђедовић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет, Београд –
Земун

Др Љубиша Станисављевић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Биолошки факултет,
Београд – Земун

Др Марија Буга, истраживач
Laboratory of Agricultural Zoology & Entomology
Of Agricultural University of Athens, Greece

Др Фани Хатјина, истраживач
Hellenic Institute of Agriculture (N.AG.RE.F),
N.Moudania, Greece

Прилог:

1. F. Hatjina, **L. Haristos** (2005). Indirect effects of oxalic acid administered by trickling method on honey bee brood. *Journal of Apicultural Research* 44(4): 172-174
2. F. Hatjina, M. Bouga, A. Karatasou, A. Kontothanasi, **L. Charistos**, C. Emmanouil, N. Emmanouil, AD. Maistros (2010) Pilot survey of honey bee colony losses in Greece (2007 & 2008) *Journal of Apicultural Research –Special Edition* 49(1): 116-118

