

Факултет Пољопривредни

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

33/7-5.3.

(Број захтева)

25.04.2018.

(Датум)

Веће научних области
биотехничких наука

(Назив већа научне области коме се захтев
упућује)

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на одлуку о прихватању теме докторске дисертације и о одређивању ментора

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 186/15-пречишћени текст и 189/16), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације:

„Диверзитет врста рода *Rhizoctonia* у Србији“.
(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ Фитомедицина

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

1.

Мира, Младен, Војводић

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета,
студијски програм):

Универзитет у Београду -

Пољопривредни факултет, Студијски програм
Фитомедицина

3. Година завршетка

претходног нивоа студија: 2015.

4. Година уписа на докторске студије: 2015/2016.

5. Назив студијског програма
докторских студија:

Пољопривредне науке, модул Фитомедицина

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ:

Име и презиме ментора: Александра Булајић

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Hrustić, J., Delibašić, G., Stanković, I., Grahovac, M., Krstić, B., **Bulajić, A.**, Tanović, B. (2015): *Monilinia* Species Causing Brown Rot of Stone Fruits in Serbia. *Plant Disease* 99: 709-717.
2. Vučurović, A., **Bulajić, A.**, Stanković, I., Ristić, D., Berenji, J., Jović, J., Krstić, B. (2012): Non-persistently aphid-borne viruses infecting pumpkin and squash in Serbia and partial characterization of *Zucchini yellow mosaic virus* isolates. *European Journal of Plant Pathology* 133: 935-947.
3. Popović, M. M., **Bulajić, A.**, Ristić, D., Krstić, B., Jankov, M. R., Gavrović–Jankulović, M. (2012): *In vitro* and *in vivo* antifungal properties of cysteine proteinase inhibitor from green kiwifruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92: 3072-3078.
4. Jankovics, T., Dolovac, N., **Bulajić, A.**, Krstić, B., Pascal, T., Bardin, M., Nicot, P., Kiss, L. (2011): Peach rusty spot is caused by the apple powdery mildew fungus, *Podosphaera leucotricha*. *Plant Disease* 95: 719-724.
5. **Bulajić, A.**, Đekić, I., Jović, J., Krnjajić, S., Vučurović, A., Krstić, B. (2010): *Phytophthora ramorum* occurrence in ornamentals in Serbia. *Plant Disease* 94: 703-708.

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће Пољопривредног факултета

на седници одржаној 25.04.2018. размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

- Прилог
1. Одлука Наставно-научног већа о прихватању теме и одређивању ментора
 2. Извештај Комисије

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 33/7-5.3.
Датум: 25.04.2018. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 44. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће факултета на седници одржаној 25.04.2018. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени пријаве теме докторске дисертације коју је поднела **МИРА ВОЈВОДИЋ, мастер** и одобрава израда дисертације под насловом: **«ДИВЕРЗИТЕТ ВРСТА РОДА *Rhizoctonia* У СРБИЈИ».**

II За ментора се именује др Александра Булајић, редовни професор.

III На одлуку о прихватању теме докторске дисертације и одређивању ментора сагласност даје одговарајуће Веће научних области Универзитета у Београду.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору, Институту за фитомедицину, Студентској служби и архиви.

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ
Датум: 30.03.2018.

Предмет: Извештај Комисије за оцену пријаве докторске дисертације кандидата Мире Војводић, мастер инжењера пољопривреде

Одлуком Наставно-научног већа Факултета број 33/6–3.2. од 27.03.2018. године именована је Комисија за оцену пријаве докторске дисертације под насловом: «ДИВЕРЗИТЕТ ВРСТА РОДА *Rhizoctonia* У СРБИЈИ» кандидата Мире Војводић, мастер инжењера пољопривреде. Комисија у саставу: др Александра Булајић, редовни професор, др Ивана Вицо, ванредни професор и др Петар Митровић, научни сарадник Института за ратарство и повртарство, Максима Горког 30, Нови Сад, на основу увида у пријаву докторске дисертације и њене анализе, подноси следећи:

ИЗВЕШТАЈ

1. Наслов докторске дисертације

Комисија прихвата наслов докторске дисертације предложен од стране кандидата: «Диверзитет врста рода *Rhizoctonia* у Србији».

2. Предмет и програм истраживања

Род *Rhizoctonia* представља један од најзначајнијих и најразноврснијих родова, са врстама распрострањеним свуда у свету, које су чести проузроковачи економски штетних обољења на многим гајеним биљкама али и сапроби и микоризне врсте. Изазивају велике штете на бројним економски веома значајним усевама. Врсте овог рода одржавају се у земљишту и проузроковачи су трулежи семена, палежи клијанаца, сушења листова, трулежи корена и стабла и пропадања целих биљака. Штете настају услед пропадања сејанаца пре ницања и проређености усева и кржљавости биљака (Garcia et al., 2006). Принос заражених биљака је увек умањен, забележене су штете од 10% до 100% у зависности од биљке домаћина, јачине напада, као и услова спољашње средине (Yang et al., 2015).

Иако је род *Rhizoctonia* одавно установљен, а врсте дуго познате и проучаване, њихов статус, па чак и бројност нису усаглашени у свету. Врсте у оквиру рода *Rhizoctonia* се разликују по морфолошким, биохемијским и молекуларним особинама, патогености, агресивности, кругу домаћина и другим особинама, тако да су њихови еволутивни, па и таксономски међуодноси још увек недовољно расветљени. Оно што отежава таксономију у оквиру рода *Rhizoctonia* јесте да је ограничен број морфолошких карактера који би се могли користити за идентификацију. Најзначајнији за сада усаглашени критеријуми за раздвајање врста унутар рода *Rhizoctonia* заснивају се на броју једара у

ћелијама младих хифа (двоједарне или вишеједарне), као и на концепту анастомозних група, који се односи на способност препознавања и спајања хифа сродних изолата (Carling, 1996). На основу наведеног концепта, који је у употреби код врста рода *Rhizoctonia* које имају телеоморф у родовима *Thanatephorus* и *Ceratobasidium*, врсте су подељене на ниже категорије - анастомозне групе (eng. anastomosis group, AG), а неке AG су даље подељене на подгрупе на основу патогености, анализе изоензима, састава масних киселина, серолошких реакција, секвенце ITS региона и морфолошких карактеристика (Tewoldemedhin et al., 2006).

Вишеједарне врсте су на основу анастомозних реакција подељене у 14 група: од AG-1 до AG-13 укључујући и AG-Bi („bridging“, премошћујући изолати, односно изолати који могу да се упаре са изолатима из више различитих AG) (Sharon et al., 2006). У оквиру наведених, поједине групе испољавају диверзитет и имају широк круг домаћина, какве су AG-1 (IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG), AG-2 (2-1Nt, 2-1t, 2-2IIIB, 2-2IV, 2-2LP, 2-2WB, 2-3, 2-4), AG-4 (HG I, HG II, HG III) и AG-6 (GV 1, GV 2, GV 3, HG 1). Двоједарне врсте подељене су на 20 група: од AG-A до AG-W (Sharon et al., 2008; Yang et al., 2015). Диверзитет и широк круг домаћина у оквиру двоједарних врста имају AG-B (Ba, Bb, Bo), AG-D (I, II, III) и AG-F (Fa, Fb), док широк круг домаћина још имају и AG-A, G, E и I. Иако су учињени велики напори на истраживањима таксономског статуса појединих AG и подгрупа у оквиру *Rhizoctonia* spp. анализирањем секвенци нуклеарних и митохондријалних гена рибозомалне DNA и појединих протеинских гена, филогенетски међуодноси унутар рода, као и таксономска позиција врста у оквиру рода нису још усаглашени. Анализе отежавају и различити извори варијабилности (хибридизација, рекомбинације, хоризонтални и вертикални трансфер гена и други) и установљене различите брзине еволутивних промена појединих генских фрагмената изолата у оквиру рода *Rhizoctonia* (Gonzales et al., 2016). Поред тога, недоумица да ли врсту *R. solani*, као најраспрострањенијег и најпроучаванијег представника рода сматрати комплексном врстом или комплексом врста још увек није разрешена (Gonzales et al., 2016; Ajayi-Oyetunde and Bradley, 2017).

Како *Rhizoctonia* spp. имају широк круг домаћина и дуго се одржавају у земљишту, контрола обољења које изазивају ове некротрофне врсте веома је сложена и тешка. Неопходно је истовремено укључити неколико мера, као што су коришћење сертификованог, здравог и/или третираног семена и садног материјала и комбинација више агротехничких и хемијских мера. Развој отпорних сорти сложен је управо због разноликости популације и широког круга домаћина патогена и на тржишту су ретке сорте са задовољавајућим нивоом отпорности која је обично усмерена само на поједине AG. Посебна пажња посвећује се контроли применом биолошких агенаса. Примена препарата на бази агенаса биолошке контроле у инфестирана земљишта или на семе показала се као перспективан начин контроле болести које изазивају врсте рода *Rhizoctonia*. Неколико врста рода *Trichoderma*, често присутних ризосферних сапробних гљива, испољило је значајну активност. Установљено је да често испољавају негативно деловање према различитим врстама рода *Rhizoctonia* кроз механизам микопаразитизма, компетиције за простор и храну, као и лучење антибиотика и ензима за разградњу ћелијског зида (Anees et al., 2009).

Структура популације, диверзитет и распрострањеност врста и различитих AG у оквиру рода *Rhizoctonia* у неком подручју, нарочито због често широког круга домаћина од изузетног је значаја. Велики број истраживача у свету се бавио диверзитетом ових врста на одређеном простору, као и на одређеним биљкама. Међутим, већина истраживања у свету бави се диверзитетом врста рода *Rhizoctonia* на једном или неколико сродних усева. Шири круг домаћина укључен је у истраживањима Ohkura (2008) у држави Њујорк где је на различитим врстама поврћа детектовано присуство AG-1, 2-1, 2-2, 4, 5, 11, A и E. Слично томе, Belka and Manka (2014) проучавали су структуру популације врста рода *Rhizoctonia* у расадницима шумских биљака у Пољској и утврдили присуство AG-1-IC, 2-1, 4-HG2 и 5. Jaaffar et al. (2016) проучавали су врсте рода *Rhizoctonia* на пшеници и јечму у држави Вашингтон и доказали AG-2-1, 3, 4, 8, 10, 11 и I. Tewoldemedhin et al. (2006) су у покрајини Кејп у Јужноафричкој Републици на пшеници и детелини установили присуство AG-4, HG-II, 2-1, AG-3, AG-2-2, 11, A, I и K и документовали разлике у патогености. Yang et al. (2014) су у Кини током вишегодишњих проучавања врста рода *Rhizoctonia* на кромпиру открили AG-A, F, G, I, K, U и W.

У Србији постоје ограничени подаци о присуству и диверзитету изолата комплексног рода *Rhizoctonia*, иако се обољења проузрокована врстама рода *Rhizoctonia* редовно јављају. Мало је података новијег датума, а и већином су постојећи подаци ограничени на свега неколико биљака домаћина. Истраживања Вицо (1997) по први пут у Србији примењују концепт анастомозних група и конвенционалним методама упаривањем са тестер изолатима детектују присуство AG-I и AG-A на јагоди, AG-1 IA на соји, AG-2-2 IV на луцерки и кромпиру, као и вишеједарне *Rhizoctonia* sp. на хризантеми. Vico et al. (2006) на основу конвенционалних метода у својим истраживањима на шећерној репи детектовали су вишеједарне врсте рода *Rhizoctonia*. Stojšin et al. (2011) су молекуларним методама утврдили присуство *R. solani* AG-2-2 IIIB, IV и AG-4 HG II, као проузроковача мрке трулежи корена на пољима шећерне репе у Војводини. Узимајући у обзир диверзитет описан у свету, као и економски значај, неопходно је обавити детаљна истраживања усмерена ка добијању прецизних података о присуству различитих AG на новим домаћинима у Србији. Поред тога, већина AG детектованих у Србији није молекуларно окарактерисана, што је неопходно да би се одредила припадност анастомозној подгрупи и тиме у потпуности окарактерисао изолат. Нови подаци о диверзитету *Rhizoctonia* spp. у Србији пружили би увид у позицију домаћих изолата у односу на друге сродне изолате из различитих делова света, указали би на преваленцију постојећих, али и присуство нових AG и на могуће нове домаћине и угрожене усеве у нашој земљи.

3. Научни циљ истраживања

Узимајући у обзир огроман диверзитет и постојање бројних AG како вишеједарних тако и двоједарних врста рода *Rhizoctonia*, као и недостатак новијих података и истраживања у нашој земљи, основни циљеви истраживања у оквиру ове докторске дисертације јесу да се детаљније испита присуство ових комплексних врста, да се окарактеришу проучавањем конвенционалних и молекуларних особина и да се установи круг домаћина у Србији укључујући индустријске, повртарске и воћарске врсте. На основу вишегодишњих истраживања одабраних изолата различитог порекла као и њихове

морфолошке, биолошке и молекуларне идентификације и карактеризације, циљ је да се добије детаљна слика о томе које су све AG вишеједарних и двоједарних *Rhizoctonia* укључене у појаву болести, да се испита распрострањеност раније детектованих AG, али и присуство нових AG за Србију, упореди са њиховим присуством и домаћинима у свету, добије увид у варијабилност, агресивност појединих изолата, као и преваленцију на територији наше земље. Испитивања експерименталног круга домаћина различитих AG вишеједарних и двоједарних *Rhizoctonia* додатно ће допринети њиховој биолошкој карактеризацији, а анализа секвенци више одабраних локуса најраспрострањенијих изолата пружиће прве податке о филогенетским и евентуално биогеографским међуодносима изолата из Србије и осталих делова света. Посебан допринос истраживања у оквиру ове дисертације биће испитивање могућих агенаса биолошке контроле из рода *Trichoderma*, постојање специфичности у деловању на поједине AG и расветљавање њиховог међуодноса са различитим AG вишеједарних и двоједарних *Rhizoctonia* из Србије у дуалним културама. Посебан практичан допринос ове дисертације биће испитивање могућности примене добијених изолата гљива из рода *Trichoderma* у контроли различитих AG вишеједарних и двоједарних *Rhizoctonia* из Србије у експерименталним условима.

4. Основне хипотезе од којих се полази

Почетне хипотезе приликом израде ове докторске дисертације су да је у Србији присутно више AG вишеједарних и двоједарних *Rhizoctonia* него што је то до сада установљено, а пре свега да су ове значајне фитопатогене гљиве присутне и изазивају обољења већег броја биљака домаћина од за сада испитаног у Србији. Очекује се да су врсте рода *Rhizoctonia* веома разноврсне, да се комплекс састоји од већег броја анастомозних и интраспецијских група, од којих ће неке по први пут бити детектоване и окарактерисане на основу више локуса у нашој земљи. Биолошка карактеризација изолата указује на разлике у агресивности и патогености изолата *Rhizoctonia* из различитих анастомозних подгрупа, група али и двоједарних и вишеједарних изолата. С обзиром на варијабилност изолата *Rhizoctonia*, установиће се да ли постоји специфичност у њиховом међуодносу са биолошким агенсима из рода *Trichoderma* и утврдиће се могућност употребе потенцијалних биолошких агенаса изолованих и окарактерисаних у оквиру ове дисертације. Истраживања у оквиру ове докторске дисертације допринеће унапређењу метода детекције, идентификације и молекуларне карактеризације гљива рода *Rhizoctonia*, указује на нове домаћине у нашој земљи и представљаће основу за избор и примену мера контроле, као и коришћење природних непријатеља.

5. Материјал и методе које ће се користити у истраживању

а) Сакупљање узорака биљака са симптомима гљивичних зараза. Сакупљање узорака са симптомима који указују на заразу врстама рода *Rhizoctonia*, обавиће се на већем броју локалитета у Србији, у периоду од 2013-2018. године. Различите индустријске, повртарске и воћарске биљке које се гаје на отвореном пољу и у заштићеном простору, а пре свега парадајз, паприка, мрква, кромпир, шећерна репа, јагода, јабука и друге ће бити укључене у истраживања. Преглед и узорковање различитих усева гајених биљака биће обављен у

више термина током године, током мировања вегетације, као и у време појаве различитих симптома болести.

б) Изолација гљива из сакупљених узорак. Из заражених биљних органа, као што су корен, кртоле, живићи, семе и дрвенасти делови, обавиће се изолација на кромпир–декстрозни агар (potato-dextrose agar, PDA) стандардним фитопатолошким методама. Стерилним скалпелом биће исечени фрагменти ткива са прелаза између здравог и зараженог дела, детаљно испрани млазом чесменске воде и потом површински стерилисани у 2% раствору натријум-хипохлорита (NaOCl, комерцијална варикина). Након површинске стерилизације узорци ће бити засејавани на PDA и инкубирани 7–10 дана при температури 25°C, у условима мрака. Пресејавањем развијених колонија са морфолошким особинама које одговарају врстама рода *Rhizoctonia* добиће се чисте културе, и од њих након седам дана инкубације извршиће се изолација врха хифе. Након 15-20 сати инкубације на воденом агару (water agar, WA), посматраће се изоловани врхови младих хифа, обележавати и преносити на стерилну PDA. Овим поступком добиће се изолати врха хифа (hyphal tip culture) гљива који ће бити коришћене у даљим истраживањима.

в) Испитивање макроскопских и микроскопских карактеристика изолата. Идентификација на основу морфолошких особина укључиће проучавање макроскопских особина колонија у култури као што су: боја колоније, изглед и облик маргина, брзина пораста, боја и текстура мицелије, присуство концентричних прстенова, време, место, и распоред формирања склероција, као и њихова обојеност (Jaffar et al., 2016). Од микроскопских особина испитиваће се димензије хифа, начин и угао гранања хифа, присуство сужења и септе после места гранања, присуство и време формирања монилиформних ћелија и одређивање броја једара у ћелијама. Бојење једара и осталих микроскопских структура прикупљених изолата биће обављено коришћењем шафранина и анилинског плавог директно у културама као и на микроскопској плочици (Herr, 1979).

г) Анастомозне реакције између изолата. Припадност испитиваних изолата појединим анастомозним групама и подгрупама засниваће се на карактеризацији хифалних анастомозних реакција у дуалним културама. Анастомозне групе биће одређиване посматрањем хифалне реакције између непознатог изолата и референтног изолата познате анастомозне групе (Tewoldemedhin et al., 2006). Испитивани изолати *Rhizoctonia* spp. и референтни изолати из колекције Катедре за фитопатологију (за AG 1 IC, AG 2-1, AG 2-2IIIВ, AG 3, AG 4 HG2, AG 5, AG 6 HG1, AG 8, AG 9 и AG D добијене од др Jamesa Woodhall, FERA, Енглеска и AG 2-1, 2-2, 3, 5 добијене од др Véronique Edel-Hermann, INRA, Француска) биће постављени у дуалним културама на PDA и WA истовременим засејавањем исечцима пречника 5 mm постављеним на супротним странама. Свака комбинација изолат *Rhizoctonia* spp. / референтни изолат биће засејан у 5 понављања, инкубиран на 25°C, 7 дана уз повремено микроскопирање да се забележе активности. Хифалне анастомозне реакције биће окарактерисане на основу скале према Carling (1996).

д) Провера патогености испитиваних изолат и одређивање круга домаћина. Утврђивање круга домаћина и тест провере патогености биће постављен у лабораторијским условима, на клијанцима на PDA. У тестирања круга домаћина изолат различитих AG вишеједарних и двоједарних *Rhizoctonia* из Србије биће укључено најмање 11 биљака из различитих биљних фамилија укључујући Poaceae, Apiaceae, Solanaceae, Amarathaceae, Fabaceae, Asteraceae, Brassicaceae и друге. На дну епрувете са закошеном подлогом биће постављано површински стерилисано семе, а након клијања фрагменти мицелије биће постављени на 2 cm од клијанца (модификовано по Mesiaen et al., 1959). Као негативна контрола послужиће семе постављено на исти начин, без инокулума. Епрувете у усправном положају бити инкубиране на собној температури (21–25°C) и природним условима смене дана и ноћи. Оцена реакције биљке домаћина вршиће се визуелно након пет и седам дана на основу појаве симптома. Оглед ће бити постављен у пет понављања. Из клијанаца са симптомима, биће вршена реизолација коришћењем истих метода као при изолацији.

ђ) Молекуларна идентификација и карактеризација. Ланчана реакција полимеразе (polymerase chain reaction, PCR) биће примењена за амплификацију одабраних генских региона у циљу молекуларне идентификације и карактеризације различитих AG вишеједарних и двоједарних *Rhizoctonia* из Србије. За ова испитивања биће одабрани изолати различитог порекла и година изолације, добијени из паприке, парадајза, шећерне репе, мркве, јагоде, јабуке, трешње и осталих домаћина.

Екстракција укупних DNA биће обављена из мицелије изолат одгајених на течном PDB подлози (potato dextrose broth) подлози у термостату на 25°C у условима мрака у трајању од 7 дана) помоћу DNeasy Plant Mini Kit-a (Qiagen, SAD), према упутству произвођача.

Ланчана реакција полимеразе биће коришћена за умножавање нуклеарних и митохондријалних гена испитиваних изолат уз примену одговарајућих парова прајмера. У истаживања ће бити укључени неки од следећих генских региона као и одговарајући прајмери као што су: ITS rDNA регион (Nuclear ribosomal internal transcribed spacer region) (White et al., 1990), TEF1 α (Translation elongation factor 1a), LSU (Large ribosomal subunit) и ATP6 (mitochondrial gene encoding ATP syntethase subunit 6) (Gonzales et al., 2016).

Визуелизација продуката PCR реакције обавиће се електрофоретским раздвајањем у 1% агарозном гелу у 1 x TBE пуферу, бојењем етидијумбромидом и посматрањем под UV-трансилуминатором. За одређивање величине умножених ампликона користиће се маркер, Mass Ruler DNA Leader, Low Range (Fermentas).

Секвенцирање амплификованих фрагментата ITS rDNA и других одабраних генских региона обавиће се услужно (MACROGEN, Korea), у оба правца коришћењем истих прајмера као за амплификацију. Коришћењем BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) анализе вршиће се упоређивање добијених секвенци са секвенцама доступним у базама података, NCBI (National Centre for Biotechnology Information), BOLD (Barcode of Life Data System) и другим базама података.

Филогенетске анализе обавиће се након прорачуна генетичке сличности секвенци одабраних изолата са изолатима из других делова света, коришћењем софтверског пакета MEGA верзија 6.0. (Tamura et al., 2013). Проучавање еволутивне повезаности одабраних изолата, вишеструко упаривање секвенци и реконструкција филогенетских стабала (заснованих на појединачним генима или комбинованим вишегенским подацима) биће обављено коришћењем Neighbor-Joining, Maximum-likelihood и Maximum-parsimony метода интегрисаних унутар програма MEGA 6.0 и bootstrap подршке са 1000 понављања.

е) Испитивање утицаја агенаса биолошке контроле на испитиване изолате и то изолата *Trichoderma* spp. и испитиваних изолата *Rhizoctonia* spp. обухватиће изолацију и идентификацију изолата *Trichoderma* spp. као и испитивање биолошке активности у односу на испитиване изолате пореклом са различитих домаћина. Деловање *Trichoderma* spp. на испитиване изолате *Rhizoctonia* spp. биће испитивано у дуалним културама на PDA и WA подлози засејавањем исечцима колоније пречника 5 mm постављеним на супротним странама Петри кутије (Anees et al., 2009). Свака комбинација изолат *Rhizoctonia* spp. / *Trichoderma* spp. биће засејана у пет понављања, инкубирана на 25⁰C 15 дана уз свакодневно микроскопирање да се забележе активности. Однос *Rhizoctonia* spp. / *Trichoderma* spp. биће окарактерисан на основу свих промена које се уоче као што су: промена у брзини пораста *Rhizoctonia* spp., појава заустављања пораста хифа *Rhizoctonia* spp., учесталост обавијања хифа *Rhizoctonia* spp. са *Trichoderma* spp., појава пуцања хифа при контакту, утицај паразитираности на динамику и распоред формирања склероција код различитих изолата *Rhizoctonia* spp. и друго. На основу свих параметара извршиће се поређење реакције изолата *Rhizoctonia* spp. из различитих AG, као и одређивање постојања специјализације изолата *Trichoderma* spp.

ж) Могућност контроле *Rhizoctonia* spp. применом одабраног изолата *Trichoderma* spp. Најперспективнији изолати *Trichoderma* spp. из огледа са дуалним културама користиће се за испитивање могућности контроле различитих AG вишеједарних и двоједарних *Rhizoctonia* из Србије у условима стакленика. Огледи ће укључити одабране експерименталне биљке домаћине, а испитавањем комбинација различитих времена примене *Trichoderma* spp. у односу на испитиване различите AG у земљишту одредиће се постојање супресије развоја патогена. Очитаваће се број изниклих клијанаца, као и појава некрозе на њима 15 дана од постављања третмана. Оглед ће бити постављен у пет понављања и са одговарајућим контролама, а сви добијени резултати биће статистички обрађени применом анализе варијансе (ANOVA) и коришћењем различитих статистичких пакета.

6. Списак литературе цитиране у тексту пријаве

Списак литературе цитиране у тексту дат је у прилогу 1.

7. Списак објављених и саопштених научних радова

Списак саопштених и објављених радова дат је у прилогу 2.

8. Биографија кандидата

Мастер инжењер, Мира Војводић рођена је 25.10.1991. године у Книну, Република Хрватска. Одсек за фитомедицину на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, уписала је школске 2010/11 године. Дипломирала је 2014. године, са просечном оценом 9,29 (девет 29/100), одбранивши дипломски рад „Морфолошке и молекуларне особине *Penicilium italicum* Wehmer патогена плода лимуна“ са оценом 10 (десет). Дипломске академске студије (мастер студије) завршила је са просечном оценом 9,50 (девет 50/100), одбранивши мастер „Карактеризација врста рода *Monilinia* на плодовима брескве и нектарине у подручју Смедерева и Тополе“ са оценом 10 (десет). Практични део мастер рада урадила је на Институту за пестициде и заштиту животне средине, Београд, Земуну. На одсеку за Фитомедицину истог факултета, школске 2015/16 године, уписала је докторске академске студије и положила све предвиђене испите са просечном оценом 9,75 (девет 75/100). Од 2015. године као стипендиста Министарства за просвету и науку Републике Србије ангажована је на Катедри за фитопатологију, Пољопривредног факултета, Универзитета у Београду на пројекту ИИИ 43001 „Агробiodиверзитет и коришћење земљишта у Србији: интегрисана процена биодиверзитета кључних група артропода и биљних патогена“ Изабрана је 30.06.2016. године у звање истраживач-приправник. Била је ангажована на међународном пројекту FP7- REGPOT-AREA-316004 “Advancing research in agricultural and food sciences at Faculty of Agriculture, University of Belgrade” у оквиру кога је 2016. године обавила студијски боравак у Campus du vegetal, Institut de Recherche en Horticulture et Semences IRHS у Анжеу, Француска. Члан је Друштва за заштиту биља Србије. Говори енглески језик. До сада је саопштила шест научних радова, четири на скупу националног и два на скупу међународног значаја.

9. Закључак и предлог

На основу анализе поднете пријаве, предложеног програма и научног циља докторске дисертације кандидата Мире Војводић, мастер инжењера пољопривреде, под насловом: «Диверзитет врста рода *Rhizoctonia* у Србији», Комисија сматра да је изабрана тема од изузетног значаја за науку и праксу.

На основу вишегодишњих истраживања одабраних изолата различитог порекла као и њихове морфолошке, биолошке и молекуларне идентификације и карактеризације, ова дисертација пружиће детаљну слику које су све АГ вишеједарних и двоједарних *Rhizoctonia* укључене у појаву болести, каква је распрострањеност раније детектованих АГ, али откриће и присуство нових АГ за Србију, као и увид у варијабилност, релативну агресивност појединих изолата и преваленцију на територији наше земље. Испитивања експерименталног круга домаћина различитих АГ вишеједарних и двоједарних *Rhizoctonia* додатно ће допринети њиховој биолошкој карактеризацији, а анализа секвенци више одабраних локуса најраспрострањенијих изолата пружиће прве податке о филогенетским и евентуално биогеографским међуодносима изолата из Србије и осталих делова света.

Поред фундаменталног, ова докторска дисертација имаће и двојаки практични значај. Познавање диверзитета и круга домаћина врста рода *Rhizoctonia* пружиће први одговор неопходан за креирање ефикасних мера контроле. Поред тога, кроз истраживања деловања биолошких агенаса, изолата *Trichoderma* spp. на изолате *Rhizoctonia* spp. са дивергентним анастомозним груписањем *in vitro*, али и у условима стакленика, допринеће се одређивању њиховог потенцијала да се користе као агенси биолошке контроле.

На основу свега изнетог, Комисија позитивно оцењује поднету пријаву и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати поднету пријаву и Мири Војводић, мастер инжењеру пољопривреде одобри изradу докторске дисертације под насловом: «Диверзитет врста рода *Rhizoctonia* у Србији».

Комисија за ментора ове докторске дисертације предлаже др Александру Булајић, редовног професора.

Београд, 30.03.2018. год.

Чланови Комисије:

др Александра Булајић, редовни професор
(ужа научна област Фитопатологија)
Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет

др Ивана Вицо, ванредни професор
(ужа научна област Фитопатологија)
Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет

др Петар Митровић, научни сарадник
(ужа научна област Фитопатологија)
Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад

Прилог 1. Списак литературе цитиране у тексту пријаве

- Ajayi-Oyetunde, O. O. and Bradley, C. A. (2017): *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of Rhizoctonia seedling disease of soybean. Plant Pathology Doi: 10.1111/ppa.12733.
- Anees, M., Tronsmo, R., Edel-Hermann, V., Gordon Hjeljord, L., HeRaudc, C., Steinberg, C. (2010): Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. Fungal Biology, 114: 691-701.
- Bełka, M. and Mańka, M. (2014): Characteristics and diversity of *Rhizoctonia* spp. population in soil of selected forest bare-root nurseries in Poland. Acta Mycologica, 49: 279–290.
- Carling, D. E. (1996): Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis interactions in *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology in Disease Control, 37-47, B. Sneh et al., Kluwer Academic Publishers.
- Garcia, G. V., Portal, O. M. A., Rubio, S. V. (2006): Review. Biology and Systematics of the form genus *Rhizoctonia*. Spanish Journal of Agricultural Research, 4: 55-79.
- Gonzalez, D., Rodriguez-Carres, M., Boekhout, T., Stalpers, J., Kuramae, E. E., Nakatani, A. K., Vilgalys, R., Cubeta, M. A. (2016): Phylogenetic relationships of *Rhizoctonia* fungi within the Cantharellales. Fungal Biology, 120: 603-19.
- Herr, L. J. (1979): Practical nuclear staining procedures for *Rhizoctonia* like fungi. Phytopathology, 69: 958-961.
- Jaffar, A. K. M., Paulitz, T. C., Schroeder, K. L., Thomashow, L. S., Weller, D. M. (2016): Molecular characterization, morphological characteristics, virulence and geographical distribution of *Rhizoctonia* spp. in Washington State. Phytopathology, 106: 459-473.
- Mesiaen, C. M., Lafon, R., Molot, P. (1959): Necroses de racines, purritures de tiges et verse parasitaire du maïs. Annals Epiphyties, 4: 441–471.
- Ohkura, M., Abawi, G. S., Smart, C. D., Hodge, K. T. (2008): Diversity and aggressiveness of *Rhizoctonia solani* and Rhizoctonia-like fungi on vegetables in New York. Plant Disease, 93: 615- 624.
- Sharon, M., Kuninaga, S., Hyakumachi, M., Sneh, B. (2006): The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. Mycoscience, 47: 299–316.
- Sharon, M., Kuninaga, S., Hyakumachi, M., Naito, S., Sneh, B. (2008): Classification of *Rhizoctonia* spp. using rDNA-ITS sequence analysis supports the genetic basis of the classical anastomosis grouping. Mycoscience, 49: 93–114.
- Stojšin, V., Budakov, D., Jacobsen, B., Bagi, F., Grimme, E., Neher, O. (2011): Analysis of *Rhizoctonia solani* isolates associated with sugar beet crown and root rot from Serbia. African Journal of Biotechnology, 10: 19049-19055.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013): MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30: 2725-2729.
- Tewoldemedhin, Y. T., Lamprecht, S. C., McLeod, A., Mazzola, M. (2006): Characterization of *Rhizoctonia* spp. recovered from crop plants used in rotational cropping systems in the Western Cape Province of South Africa. Plant Disease, 90: 1399-1406.

- Vico, I. M., Janković, D. B., Krstić, B. B., Bulajić, A. R., Dukić, N. D. (2006): Multinucleate *Rhizoctonia* spp. – pathogen of sugar beet and susceptibility of cultivars under field conditions. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke / Matica Srpska Novi Sad, 110: 109-121.
- Вицо, И. (1997): Прилог таксономији фитопатогених гљива рода *Rhizoctonia* DC. Ex Fr. Докторска теза. Пољопривредни факултет, Београд – Земун.
- Yang, Y., Zhao, C., Guo, Z. and Wu, X. (2014): Anastomosis groups and pathogenicity of binucleate *Rhizoctonia* isolates associated with stem canker of potato in China. European Journal of Plant Pathology, 139:535–544.
- Yang, Y. G., Zhao, C., Guo, Z. J., Wu, X. H. (2015): Characterisation of new anastomosis group (AG –W) of binucleate *Rhizoctonia*, causal agent for potato stem cancer. Plant Disease, 99: 1757-1763.

Прилог 2. Списак саопштених и објављених научних радова

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу

- Vico, I., Duduk, N., **Vojvodić, M.**, Drndarević, M., Vasić, M. (2014): Identification of *Penicillium italicum* causing blue mold fruit rot on lemon and tangerine, Book of Abstracts of VII Congress on Plant Protection “Integrated Plant Protection Knowledge-Based Step Towards Sustainable Agriculture, Forestry and Landscape Architecture”, Zlatibor, Serbia, pp. 297-299.
- Stanković, I., Vučurović, A., Nikolić, D., Milojević, K., **Vojvodić, M.**, Krstić, B., Bulajić, A. (2016): *Alternaria carotiincultae* – A new treat for carrot production in Serbia, Book of Abstracts of AREA International conference “State-of-the-Art Technologies: Challenge for the Research in Agricultural and Food Sciences”, Belgrade, Serbia, pp. 120.

Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу

- Хрустић, Ј., **Војводић, М.**, Михајловић М., Делибашић, Г., Тановић, Б. (2015): Разлике у осетљивости изолата *Monilinia laxa* и *Monilinia fructicola* на фунгициде in vitro, Зборник резимеа XIII Саветовање о заштити биља, Златибор, Србија, стр. 44.
- Булајић, А., Станковић, И., Вучуровић, А., Зечевић, К., **Војводић, М.**, Николић, Д., Крстић, Б. (2016): *Pestalotiopsis clavispora* патоген украсних биљака у Србији. Зборник резимеа XIII Симпозијум о заштити биља, Теслић, Босна и Херцеговина, стр. 12-13.
- Станковић, И., Вучуровић, А., Зечевић, К., **Војводић, М.**, Николић, Д., Крстић, Б., Булајић, А. (2016): Морфолошка и молекуларна идентификација *Pestalotiopsis clavispora* патогена рододендрона у Србији. Зборник резимеа XV Симпозијум о заштити биља, Златибор, Србија, стр. 95.
- Војводић, М.**, Станковић, И., Вучуровић, А., Зечевић, К., Николић, Д., Крстић, Б., Булајић, А. (2017): *Ilyonectria robusta* нови патоген црног бора у Србији. Зборник резимеа XIV Саветовање о заштити биља, Златибор, Србија, стр. 46.

Име и референце предложеног ментора

Име и презиме ментора: др Александра Булајић

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Hrustić, J., Delibašić, G., Stanković, I., Grahovac, M., Krstić, B., **Bulajić, A.**, Tanović, B. (2015): *Monilinia* Species Causing Brown Rot of Stone Fruits in Serbia. *Plant Disease* 99: 709-717.
2. Vučurović, A., **Bulajić, A.**, Stanković, I., Ristić, D., Berenji, J., Jović, J., Krstić, B. (2012): Non-persistently aphid-borne viruses infecting pumpkin and squash in Serbia and partial characterization of *Zucchini yellow mosaic virus* isolates. *European Journal of Plant Pathology* 133: 935-947.
3. Popović, M. M., **Bulajić, A.**, Ristić, D., Krstić, B., Jankov, M. R., Gavrović–Jankulović, M. (2012): *In vitro* and *in vivo* antifungal properties of cysteine proteinase inhibitor from green kiwifruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92: 3072-3078.
4. Jankovics, T., Dolovac, N., **Bulajić, A.**, Krstić, B., Pascal, T., Bardin, M., Nicot, P., Kiss, L. (2011): Peach rusty spot is caused by the apple powdery mildew fungus, *Podosphaera leucotricha*. *Plant Disease* 95: 719-724.
5. **Bulajić, A.**, Đekić, I., Jović, J., Krnjajić, S., Vučurović, A., Krstić, B. (2010): *Phytophthora ramorum* occurrence in ornamentals in Serbia. *Plant Disease* 94: 703-708.