

Факултет Пољопривредни

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

32/9-6.2.

(Број захтева)

26.06.2019.

(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:

„Антифунгално деловање етарских уља лековитог и ароматичног биља на врсте рода
Trichoderma – патогене јестивих гљива“
(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ Фитомедицина

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

1. Јелена, Мирољуб, Луковић

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета,
студијски програм):
Пољопривредни факултет, Студијски програм
Фитомедицина

Универзитет у Београду

3. Година завршетка
претходног нивоа студија: 2017.

4. Година уписа на докторске студије: 2017/2018.

5. Назив студијског програма
докторских студија: Пољопривредне науке, модул Фитомедицина

ПОДАЦИ О ПРВОМ МЕНТОРУ:

Име и презиме ментора: Ивана Вицо

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Jurick, W. M. II, **Vico, I.**, McEvoy, J. L., Whitaker, B. D., Janisiewicz, W., Conway, W. S. (2009): Isolation, purification, and characterization of a polygalacturonase produced in *Penicillium solitum* - decayed 'Golden Delicious' apple fruit. *Phytopathology* 99: 636-641.
2. Jurick, W.M. II, **Vico I.**, Gaskins, V.L., Garrett, W.L., Whitaker, B.D., Janisiewicz, W.J., Conway, W. S. (2010): Purification and biochemical characterization of polygalacturonase produced by *Penicillium expansum* during postharvest decay of 'Anjou' Pear. *Phytopathology* 100: 42-48.
3. Jurick, W.M II, **Vico, I.**, Gaskins, V. L., Whitaker, B.D., Garret, W.M., Janisiewicz, W.J., Conway, W. S. (2012): *Penicillium solitum* produces a polygalacturonase isozyme in decayed 'Anjou' pear fruit capable of macerating host tissue *in vitro*. *Mycologia* 104: 604 - 612.
4. Vasić, M., Duduk, N., **Vico, I.**, Rančić, D., Pajić, V., Backhouse, D. (2016): Comparative study of *Monilinia fructigena* and *Monilia polystroma* on morphological features, RFLP analysis, pathogenicity and histopathology. *European Journal of Plant Pathology* 144: 15-30.
5. Vasić, M., **Vico, I.**, Jurick II, W. M., Duduk, N. (2018): Distribution and characterization of *Monilinia* spp. causing apple fruit decay in Serbia. *Plant Disease* 102: 359-369.

ПОДАЦИ О ДРУГОМ МЕНТОРУ:

Име и презиме ментора: Ивана Поточник

Звање: виши научни сарадник

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Kosanović, D., **Potočnik, I.**, Duduk, B., Vukojević, J., Stajić, M., Rekanović, E., Milijašević-Marčić, S. (2013): *Trichoderma* species on *Agaricus bisporus* farms in Serbia and their biocontrol. *Annals of Applied Biology*, 163: 218-230.
2. Kosanović, D., **Potočnik, I.**, Vukojević, J., Stajić, M., Rekanović, E., Stepanović, M., Todorović, B. (2015): Fungicide sensitivity of *Trichoderma* spp. from *Agaricus bisporus* farm in Serbia. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 50: 607-613.
3. Stanojević, O., Milijašević-Marčić, S., **Potočnik I.**, Stepanović, M., Dimkić, I., Stanković, S., Berić, T. (2016): Isolation and identification of *Bacillus* spp. from compost material, compost and mushroom casing soil active against *Trichoderma* spp. *Archives of Biological Sciences, Belgrade*, 68(4): 845-852.

4. Todorović, B., **Potočnik, I.**, Rekanović, E., Stepanović, M., Kostić, M., Ristić M., Milijašević-Marčić, S. (2016): Toxicity of twenty-two plant essential oils against pathogenic bacteria of vegetables and mushrooms. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 51(12): 832-839.
5. Milijašević-Marčić, S., Stepanović, M., Todorović, B., Duduk, B., Stepanović, J., Rekanović, E., **Potočnik, I.** (2017): Biological control of green mould on *Agaricus bisporus* by a native *Bacillus subtilis* strain from mushroom compost. *European Journal of Plant Pathology*, 148(3): 509-519.

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће Пољопривредног факултета

на седници одржаној 26.06.2019. 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 Душан Живковић

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

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 32/9-6.2.
Датум: 26.06.2019. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 51. и 52. Правилника о правилима докторских академских студија и члана 44. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће факултета на седници одржаној 26.06.2019. године, донело је

ОДЛУКУ

I ПРИХВАТА СЕ тема докторске дисертације коју је поднела **ЈЕЛЕНА ЛУКОВИЋ, мастер** и одобрава израда дисертације под насловом: **«АНТИФУНГАЛНО ДЕЛОВАЊЕ ЕТАРСКИХ УЉА ЛЕКОВИТОГ И АРОМАТИЧНОГ БИЉА НА ВРСТЕ РОДА *Trichoderma* – ПАТОГЕНЕ ЈЕСТИВИХ ГЉИВА».**

II За првог ментора се именује др Ивана Вицо, редовни професор.

За другог ментора се именује др Ивана Поточник, виши научни сарадник Институт за пестициде и заштиту животне средине у Београду.

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

Образложење

Наставно-научно веће факултета разматрало је и усвојило Извештај о позитивној оцени научне заснованости теме докторске дисертације коју је поднела Бранка Петровић, мастер.

Наставно-научно веће факултета је приликом доношења одлуке оцењивало да ли је реч о оригиналној идеји и да ли је тема од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

Сходно изнетом одлучено је као у диспозитиву.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Душан Живковић)

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

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Број:

Дана: 24.05.2019. године

Београд - Земун

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ФАКУЛТЕТА

Предмет: *Извештај Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Јелене Луковић, мастер инж.*

На основу члана 44. Став 1. Правилника о правилима докторских студија Пољопривредног факултета, а на предлог одговарајућег већа катедре и мишљења одговарајућег наставно-научног већа института, Наставно-научно веће факултета на седници одржаној 24.04.2019. године, донело је одлуку бр. 32/7-4.2. да се образује Комисија у саставу др Ивана Вицо, редовни професор, Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет (ужа научна област Фитопатологија), др Ивана Поточник, виши научни сарадник, Институт за пестициде и заштиту животне средине, Београд-Земун (ужа научна дисциплина Фитопатологија) и др Наташа Дудук, ванредни професор, Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет (ужа научна област Фитопатологија) за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Јелене Луковић, мастер инж., под насловом:

Антифунгално деловање етарских уља лековитог и ароматичног биља на врсте рода *Trichoderma* – патогене јестивих гљива.

Кандидат је дана 07.05.2019. године одбранио пријављену тему докторске дисертације, а потписан записник предат је у Студентску службу 07.05.2019. године. Председник Комисије др Ивана Вицо, редовни професор (одлука бр. 21/8 од 7.05.2019. године) подноси

ИЗВЕШТАЈ

1. Основни подаци о кандидату и дисертацији

1.1 Биографија кандидата

Јелена Луковић рођена је 16.06.1993. у Крушевцу. Основну школу је завршила у Ратају, а гимназију у Александровцу (Средња школа „Свети Трифун“). Пољопривредни факултет, Универзитета у Београду, Одсек за Фитомедицину, студијски програм Биљна производња, модул Фитомедицина уписала је школске 2012/13. године, а завршила 30.09.2016. године са општим успехом 9,07 (девет, 07/100). Завршни рад под насловом: „Антифунгална активност етарских уља цимета и каранфилића на *Cladobotryum dendroides* (Bull.) W. Gams & Hooz., проузроковача паучинасте плесни шампињона“ одбранила је са оценом 10. Мастер академске студије, студијски програм Фитомедицина, модул Фитомедицина, уписала је школске 2016/17. године и одбранила Мастер рад под називом „Антифунгална активност комбинација одабраних етарских уља према

Trichoderma aggressivum f. *europaeum* Samuels & W. Gams, проузроковачу зелене плесни шампињона“ 28.09.2017. године са оценом 10. Мастер академске студије завршила је са просечном оценом 9,50 (девет и 50/100). Школске 2017/18. године уписала је докторске академске студије на студијском програму Пољопривредне науке, модул Фитомедицина на Пољопривредном факултету, Универзитета у Београду. Експериментални део завршног и мастер рада је урадила у Институту за пестициде и заштиту животне средине, Београд-Земун у Лабораторији за примењену фитопатологију.

Јелена Луковић је изабрана у звање истраживач приправник 22.05.2018. године, а од 01.06.2018. године је запослена је на одређено време у Институту за пестициде и заштиту животне средине, Београд-Земун у Лабораторији за примењену фитопатологију у оквиру текућег пројекту ТР 31043, где је започела са реализацијом докторске дисертације. Током свог ангажовања на пројекту у Институту за пестициде и заштиту животне средине, Београд-Земун, усвојила је методе проучавања дејства антифунгалних супстанци применом метода *in vitro* (микродилуциона, макродилуциона фумигантна и контактна, пробит анализа) и *in vivo* (ефикасност у сузбијању патогена и утицај на принос). Упознала се са методом молекуларне идентификације врста рода *Trichoderma* која је обухватила екстракцију ДНК, PCR амплификацију и секвенционирање амплификованих производа. Такође, обучена је за фитосанитарни преглед биљног материјала на присуство фитопатогених гљива. До сада је објавила два научна рада (М24) и три саопштења (М64). На основу објављених радова може се закључити да је највећи део истраживања Јелене Луковић посвећен испитивању могућности сузбијања проузроковача болести јестивих гљива применом супстанци природног порекла, а посебно на проучавање ефекта етарских уља лековитог и ароматичног биља и биофунгицида на бази *Bacillus subtilis* QST713.

1.2 Предлог теме докторске дисертације

Предложена тема дисертације “Антифунгално деловање етарских уља лековитог и ароматичног биља на врсте рода *Trichoderma* – патогене јестивих гљива“ је добро формулисана и јасно и концизно обухвата предмет истраживања. Кроз наслов се у потпуности уочава циљ истраживања и резултати који се очекују.

2. Предмет и циљ дисертације

2.1 Предмет и програм истраживања

Врсте рода *Trichoderma* су нектротрофне гљиве које углавном живе у земљишту. Телеоморфни стадијум ових врста припада разделу Ascomycota, класи Sordariomycetes, реду Нуросcreales, фамилији Нуросcreaceae и роду *Нуросcrea*. Род је први пут описан крајем XVIII века. Због сличности у морфолошким особинама дуго се сматрало да у оквиру овог рода постоје само две врсте, *Trichoderma viride* Pers. и *Trichoderma koningii* Oudem, али је развој молекуларних метода омогућио разликовање и описивања више врста, као и брзу и специфичну детекцију и идентификацију изолата. Данас је познато преко три стотине врста овог рода, које се могу поуздано идентификовати умножавањем специфичних делова генома, њиховим секвенционирањем и применом биоинформатичких алгоритама *TrichOKey* и *TrichoBLAST* (Druzhinina and Kubicek, 2005; Korchinskiy et al., 2005).

Врсте рода *Trichoderma* могу бити корисне као агенси биоконтроле, али и штетне као патогени гајених гљива. Последњих деценија уочено је да бројне врсте рода

Trichoderma изазивају појаву зелене плесни, болести јестивих гљива које се у индустријском обиму гаје у свету, попут шампињона (*Agaricus bisporus* (Lange) Imbach), буковаче (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Singer) и шиитаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) (Hatvani et al., 2007). Зелена плесан се манифестује појавом симптома пегавости и трулежи. Мицелија *Trichoderma* spp. је густа, у почетку беличасте боје, а након спорулације постаје тамнозелена, по чему је болест добила име (Kosanović et al., 2013).

Прве значајне епифитоцијске појаве зелене плесни шампињона уочене су деведеситих година XX века у Европи (Велика Британија и Ирска), Америци и Канади, када је појава болести изазвала губитке приноса од 30 до 100%. Након тога, болест се брзо проширила и у друге земље. Као проузроковачи, идентификоване су две форме врсте *T. aggressivum*: *T. aggressivum* f. *europaeum* Samuels and W. Gams са Британских острва и *T. aggressivum* f. *aggressivum* Samuels and W. Gams из Северне Америке (Samuels et al., 2002). Током последње декаде, агресивна форма *T. aggressivum* f. *europaeum* се појавила у гајилиштима источне Европе и у Србији (Kosanović et al., 2013).

Зелена плесан буковаче је првобитно уочена у Северној Америци, и ову болест је изазвала врста *T. viride*, али су први значајнији губици забележени у Северној Кореји (Yu, 2002), где је већина изолата припадала двома новим врстама: *Trichoderma pleuroti* S.H.Yu and M.S. Park, и *T. pleuroticola* S.H.Yu and M.S. Park (Park et al., 2006). Сматра се да се ове микопатогене врсте одржавају и шире преко супстрата (Komon-Zelazowska, 2007).

Последњих година, уочено је да велике штете у гајилиштима шиитаке у свету, али и Србији, наносе болести са симптомима налик зеленој плесни. У свету је идентификован већи број *Trichoderma* врста, проузроковача зелене плесни шиитаке, међу којима је најзаступљенија *T. harzianum* Rifai (Kim et al., 2012; Wang et al., 2016). У Србији до сада није било литературних података о идентификацији и проучавању проузроковача зелене плесни буковаче и шиитаке.

Заштита јестивих гљива од зелене плесни обухвата низ превентивних мера и примену фунгицида и биофунгицида, али упркос тим мерама мало је података о успешном сузбијању ове болести. Прохлораз, фунгицид из групе имидазола (DMI) је једини фунгицид који се званично препоручује према Протоколу ЕППО организације за употребу у заштити јестивих гљива у Европи. Недавно је у Шпанији и Белгији уведен и метрафенон из групе бензофенона за сузбијање *Cladobotryum* spp. и *Lecanicillium fungicola* (Preuss) Hassebrauk (Carrasco et al., 2017). Међутим, увођење нових фунгицида у заштити јестивих гљива од болести је веома тешко, јер агрохемијске компаније ретко улажу средства у развој фунгицида који се примењују у малим усевама (Chrysai-Tokousbalides et al., 2007).

У заштити гајених гљива од болести пажња се све више усмерава на откривање алтернативних метода заштите. Фунгициди природног порекла могу бити биохемијски - формулисани биљни екстракти и уља, затим средства на бази корисних микроорганизама са антагонистичким дејством на штетне организме или активатори отпорности домаћина. Комерцијално су доступни препарати на бази различитих *Bacillus* врста које изазивају значајну инхибицију раста *T. aggressivum* (Milijašević-Marčić et al., 2016). Такође, синтетисан је и препарат на бази уља чајног дрвета (Kosanović et al., 2013).

Програмом истраживања ове дисертације предвиђено је испитивање присуства микопатогених гљива рода *Trichoderma* у различитим гајилиштима шампињона, буковаче и шиитаке, изолација патогена из плодноносних тела са симптомима болести и супстрата јестивих гљива, провера патогености, проучавање морфолошких особина и

идентификација патогена. С друге стране, предвиђено је прикупљање биљног материјала различитих лековитих и ароматичних биљака са територије Србије из којих ће се процесом хидродестилације издвојити етарска уља и утврдити њихов састав. Антифунгална активност добијених етарских уља према *Trichoderma* врстама патогенима шампињона, буковаче и шиитаке биће испитивана у *in vitro* тестовима применом различитих метода. Добијени резултати лабораторијских испитивања биће основ за издвајање етарских уља са најефикаснијим антифунгалним деловањем са којима ће се обавити испитивања ефикасности у *in vivo* тестовима у огледном гајилишту шампињона. Ефикасност сузбијања проузроковача зелене плесни шампињона и утицај етарских уља на принос биће упоређени са фунгицидом прохлоразом. Такође, биће проучено и заједничко деловање фунгицида и одабраног најефикаснијег етарског уља (синергистичко или антагонистичко) у сузбијању патогена, њихов утицај на принос шампињона, као и селективна токсичност фунгицида и најефикаснијег етарског уља за *Trichoderma* spp. без штетног утицаја на гљиву домаћина.

2.2 Научни циљ истраживања

Циљ истраживања у оквиру ове докторске дисертације је да се идентификују и окарактеришу врсте рода *Trichoderma* које су проузроковачи зелене плесни јестивих гљива у Србији. Затим, циљ истраживања је да се из одабраног лековитог и ароматичног биља, прикупљеног на подручју Србије, хидродестилацијом добију етарска уља и да се утврди њихов антифунгални потенцијал према идентификованим и окарактерисаним врстама рода *Trichoderma* пореклом из Србије, као и према изолатима ових врста пореклом из земаља региона. Циљ је да се у лабораторијским условима применом различитих метода испита антифунгално деловање етарских уља, појединачно или у комбинацији и да се утврди њихов хемијски састав. Следећи циљ истраживања у оквиру ове дисертације је да се одаберу етарска уља са најјачим деловањем *in vitro* и да се испита њихова ефикасност у гајилишту шампињона. Осим тога, циљ је и да се упоређи ефикасност етарских уља са ефикасношћу фунгицида који се примењују или се могу применити у гајилиштима, да се одреди селективна токсичност фунгицида и најефикаснијег етарског уља, да се испита природа међусобног дејства (синергистичко или антагонистичко), као и да се испита могућност заједничке примене фунгицида и најефикаснијег етарског уља за сузбијање зелене плесни шампињона како би се дао допринос у развоју успешније и еколошки прихватљивије стратегије сузбијања проузроковача зелене плесни јестивих гљива.

3. Основне хипотезе од којих се полази у истраживању

Основне хипотезе од којих се полази у оквиру ове докторске дисертације су следеће:

- Зелену плесан јестивих гљива - шампињона, буковаче и шиитаке изазивају различите врсте рода *Trichoderma*.
- Етарска уља лековитог и ароматичног биља са подручја Србије, примењена контактано и/или фумигантно, могу да испољавају инхибиторни и/или фунгицидни ефекат на врсте рода *Trichoderma*.

- Комбинације одабраних етарских уља лековитог и ароматичног биља могу испољити синергистички или антагонистички ефекат антифунгалног деловања према *Trichoderma* spp.
- Етарска уља добијена хидродестилацијом лековитог и ароматичног биља нису токсична за јестиве гљиве.
- Врсте рода *Trichoderma*, проузроковачи зелене плесни јестивих гљива испољавају различиту осетљивост на фунгициде прохлораз и метрафенон.
- Заједничко дејство фунгицида и етарског уља може бити синергистичко или антагонистичко.
- Одабрана етарска уља лековитог и ароматичног биља са најјачим антифунгалним дејством примењена у гајилиштима шампињона, појединачно или у комбинацији, могу да редукују појаву зелене плесни.
- Сprovedена испитивања допринеће развоју успешније стратегије сузбијања проузроковача зелене плесни јестивих гљива, засноване на повећаној употреби биолошких агенаса и смањеној употреби хемијских средстава.

4. Методе које ће се применити у истраживањима

1) Прикупљање узорака гајених гљива са симптомима зелене плесни, изолација патогена и провера патогености и вирулентости

Прикупљање плодноносних тела шампињона, буковаче и шиитак са симптомима зелене плесни и супстрата јестивих гљива обавиће се у гајилиштима у Србији, а у испитивања ће бити укључени и изолати пореклом из Северне Македоније, Мађарске и Хрватске. Из оболелих плодноносних тела и супстрата јестивих гљива патоген ће бити изолован на кромпир-декстрозну подлогу (КДА) према стандардним фитопатолошким методама (Dhingra and Sinclair, 1995). Патогеност и вирулентност добијених изолата ће бити проверена инокулацијом убраних плодноносних тела јестивих гљива суспензијом спора (10^6 конидија ml^{-1}) (Kosanović et al., 2013).

2) Идентификација и карактеризација

Идентификација и карактеризација врста рода *Trichoderma*, патогена гајених гљива, обавиће се на основу морфолошких и молекуларних одлика. Испитивање морфолошких особина обухватиће посматрање макроскопских и микроскопских одлика. Макроскопске одлике (изглед, боја, обод, наличје колоније, присуство репродуктивних структура) и брзина пораста колоније добијених изолата *Trichoderma* spp. биће посматране на КДА подлози. Микроскопске карактеристике (изглед конидиофора и конидија, димензије конидија) ће бити проучаване у културама гајеним на КДА подлози (Chaverri et al., 2003).

Молекуларна идентификација врста рода *Trichoderma* ће обухватити екстракцију ДНК, PCR амплификацију два генска региона: ITS регион рибозомалне ДНК (ITS 1 и 2) и ген за транслациони елонгациони фактор (TEF 1- α) (White et al., 1990; Druzhinina et al., 2005), као и секвенционирање амплификованих производа. Добијене секвенце биће анализиране програмом *TrichoKEY* v. 1.0 (Druzhinina et al., 2005), а упоређене BLAST анализом у оквиру база *TrichoBLAST* (Kopchinskiy et al., 2005) или NCBI GenBank.

3) Прикупљање материјала лековитог и ароматичног биља са подручја Србије и добијање етарских уља

Прикупљање материјала лековитог и ароматичног биља: дивља нана (*Mentha spicata* L.), питома нана (*Mentha piperita* L.), мајчина душица (*Thymus serpyllum* L.), босиљак (*Ocimum basilicum* L.), кантарион (*Hypericum perforatum* L.), хајдучка трава (*Achillea millefolium* L.), туја (*Thuja* sp. L.), јела (*Abies alba* Mill.), бор (*Pinus silvestris* L.), клека (*Juniperus communis* L.), обавиће се на различитим локалитетима у Србији за потребе добијања етарских уља процесом хидродестилације (Đurović-Pejčev et al., 2014).

4) Анализа етарских уља

Хемијска анализа етарских уља биће извршена методом гасне хроматографије (GC) употребом два типа детектора: пламено-јонизационог детектора (FID) и масеног спектрометра (MS). Идентификација појединачних компоненти етарских уља биће извршена коришћењем Wiley 7.0 библиотеке масених спектра и поређењем добијених Ковачевих индекса (RI) са литературним подацима (Adams, 2007), док ће квантитативна анализа бити извршена методом нормализације, на основу добијених GC-FID хроматограма (Đurović-Pejčev et al., 2014).

5) In vitro испитивање антифунгалне активности етарских уља

Идентификовани и окарактерисани изолати *Trichoderma* spp. патогени јестивих гљива биће коришћени за испитивања антифунгалне активности етарских уља. Антифунгална активности етарских уља биће испитивана применом микродилуционе и макродилуционих метода (Đurović-Pejčev et al., 2014). Након добијених прелиминарних резултата испитивања инхибиторног и леталног дејства појединачних етарских уља издвојиће се она са најјачим дејством како би се њихова ефикасност испитала и у огледном гајилишту (*in vivo* тестовима). Такође, испитаће се и антифунгална активност комбинација одабраних уља са најјачим ефектом.

У циљу поређења са осетљивошћу према испитиваним етарским уљима, осетљивост изолата *Trichoderma* spp. на два фунгицида (прохлораз и метрафенон) биће тестирана у лабораторијским условима по делимично модификованој методи Leroux and Gredit. Биће одређене концентрације које инхибирају пораст мицелије 50% у односу на контролу (вредности EC₅₀) и нагиб регресионе линије (пробит анализа) (Kosanović et al., 2015).

Селективна токсичност, изражена кроз индекс селективности, ће бити израчуната за фунгициде прохлораз и метрафенон и одабрано етарско уље са најјачом антифунгалном активношћу као однос средње ефективне концентрације (EC₅₀) за *Trichoderma* spp. и одговарајуће процењене вредности за јестиве гљиве (Chrysai-Tokousbalides et al., 2007).

6) In vivo испитивање ефикасности етарских уља у сузбијању болести и утицаја на принос

За ова испитивања супстрат за шампињоне (Фабрика компоста „Uča and co.“, Враново, Смедерево) ће бити засејан мицелијом шампињона (*A. bisporus* A15, *Sylvan, Hungária* zRt) и распоређен у пластичне кутије 0,340 x 0,215 x 0,130 m (дужина x ширина x висина) у огледном гајилишту шампињона у Институту за пестициде и заштиту животне средине, Београд- Земун. Третирање етарским уљима обавиће се заливањем покривке воденом суспензијом, а ефикасност у заштити од болести биће оцењивана након плодношења.

Ефикасност сузбијања *Trichoderma* spp. одабраним етарским уљима поређењем са фунгицидом прохлоразом (третмани заливањем покривке воденом суспензијом) биће испитана по формули Abbott-а. Утицај фунгицида на принос шампињона биће израчунат по формули Gea et al. (2010). Међусобно синергистичко или антагонистичко дејство фунгицида ће бити израчунато по Limpel-овој формули и синергистички фактор по формули Abbott-а (Kosanović et al., 2013).

7) Статистичка анализа

За статистичку обраду података користиће се софтверски пакет Статистика за Windows 6.0. (Stat Soft Italy, 1997) и програм Statgraphics (Statistical Graphics Corporation, USA). Подаци ће бити анализирани серијом тестова: ANOVA тестом (једно и мултифакторијалном анализом варијансе), а значајност разлика Fisher LSD тестом. Критеријум за значајност разлика ће бити на нивоу вероватноће $P < 0,05$ (Sokal and Rohlf, 1995). Тестови ће бити примењени у анализи дејства антифунгалних супстанци, токсичности за изолате патогених гљива *in vitro* и ефикасности у сузбијању симптома зелене плесни и утицаја на принос *in vivo*. Критеријум за значајно разликовање две регресионе линије у пробит анализи токсичности фунгицида ће бити непреклапање интервала поверења за EC_{50} и EC_{90} на нивоу вероватноће 0,05 (Kosanović et al., 2015).

5. Очекивани резултати и научни допринос

Очекује се да ће се као резултат истраживања ове дисертације стећи увид у врсте рода *Trichoderma* патогене шампињона, буковаче и шиитак у Србији и дати научни допринос њиховом идентификацијом и карактеризацијом на основу морфолошких, молекуларних и патогених одлика. Као резултат ове докторске дисертације утврдиће се антифунгални потенцијал етарских уља дивље нане (*Mentha spicata* L.), питоме нане (*Mentha piperita* L.), мајчине душице (*Thymus serpyllum* L.), босиљка (*Ocimum basilicum* L.), кантариона (*Hypericum perforatum* L.), хајдучке траве (*Achillea millefolium* L.), тује (*Thuja* sp. L.), јеле (*Abies alba* Mill.), бора (*Pinus silvestris* L.) и клеке (*Juniperus communis* L.), прикупљених са подручја Србије, према врстама рода *Trichoderma* spp. и утврдиће се њихов хемијски састав. Утврдиће се осетљивост врста рода *Trichoderma* (укључујући и изолате пореклом из региона) према испитиваним етарским уљима, као и фунгицидима у условима *in vitro* и *in vivo* и утврдиће се да ли је примена испитиваних етарских уља могућа и оправдана у сузбијању врста рода *Trichoderma*, проузроковача зелене плесни јестивих гљива. Очекује се да ће резултати ове дисертације имати и практични значај јер ће допринети развоју успешније и еколошки оправдане стратегије сузбијања проузроковача зелене плесни јестивих гљива, засноване на повећаној употреби биолошких агенаса и смањеној употреби хемијских средстава.

6. Закључак

На основу анализе поднете пријаве, одржане јавне одбране научне заснованости теме, предложеног програма и очекиваних резултата докторске дисертације Јелене Луковић, мастер инж., под насловом: „Антифунгално деловање етарских уља

лековитог и ароматичног биља на врсте рода *Trichoderma* – патогене јестивих гљива”, Комисија је заузела став да је изабрана тема од великог значаја за науку и праксу. Предложени наслов одговара постављеном циљу и програму истраживања. Поред тога, кандидат је током писања пријаве и јавне одбране показала широко знање везано за проблематику проучавања микопатогених гљива и њихових домаћина, као и компетентност и иновативност у решавању задатака које поставља ова дисертација. Комисија је уверена да ће у потпуности реализовати предложени програм и добити поуздане резултате од значаја за науку и праксу. Истраживањима у оквиру ове дисертације ће се стећи увид у врсте рода *Trichoderma* које су проузроковачи зелене плесни шампињона, буковаче и шиитакe у нашој земљи. Утврдиће се антифунгално деловање етарских уља из биљака прикупљених на територији Србије према врстама рода *Trichoderma*, патогенима шампињона, буковаче и шиитакe, пореклом из Србије и региона. Истраживања у оквиру ове докторске дисертације ће на основу резултата добијених детаљним *in vitro* испитивањима бити основа за даља *in vivo* испитивања која ће показати да ли је и на који начин могућа и оправдана примена испитиваних антифунгалних једињења биљног порекла у сузбијању врста рода *Trichoderma* у условима гајилишта. Осим тога, одредиће се природа заједничког дејства фунгицида и најефикаснијег етарског уља на сузбијање патогена и принос шампињона у гајилишту што све има за циљ развој успешније и еколошки оправдане стратегије сузбијања проузроковача зелене плесни јестивих гљива.

На основу свега изнетог, Комисија у саставу др Ивана Вицо, редовни професор Универзитета у Београду-Пољопривредни факултет, др Ивана Поточник, вишег научног сарадника, Института за пестициде и заштиту животне средине у Београду и др Наташа Дудук, ванредни професор Универзитета у Београду-Пољопривредни факултет позитивно оцењује поднету пријаву и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати поднету пријаву и Јелени Луковић, мастер инж., одобри израду докторске дисертације под насловом: „**Антифунгално деловање етарских уља лековитог и ароматичног биља на врсте рода *Trichoderma* – патогене јестивих гљива**”.

Комисија за ментора ове докторске дисертације предлаже др Ивану Вицо, редовног професора, Универзитета у Београду-Пољопривредни факултет, а за другог ментора др Ивану Поточник, вишег научног сарадника, Института за пестициде и заштиту животне средине у Београду.

7. Име и референце предложеног ментора

Име и презиме ментора 1: др **Ивана Вицо**

Звање: **редовни професор**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Jurick, W. M. II, **Vico, I.**, McEvoy, J. L., Whitaker, B. D., Janisiewicz, W., Conway, W. S. (2009): Isolation, purification, and characterization of a polygalacturonase produced in *Penicillium solitum* - decayed 'Golden Delicious' apple fruit. *Phytopathology* 99: 636-641.
2. Jurick, W.M. II, **Vico I.**, Gaskins, V.L., Garrett, W.L., Whitaker, B.D., Janisiewicz, W.J., Conway, W. S. (2010): Purification and biochemical characterization of polygalacturonase produced by *Penicillium expansum* during postharvest decay of 'Anjou' Pear. *Phytopathology* 100: 42-48.
3. Jurick, W.M II, **Vico, I.**, Gaskins, V. L., Whitaker, B.D., Garret, W.M., Janisiewicz, W.J., Conway, W. S. (2012): *Penicillium solitum* produces a polygalacturonase isozyme in decayed 'Anjou' pear fruit capable of macerating host tissue *in vitro*. *Mycologia* 104: 604 - 612.
4. Vasić, M., Duduk, N., **Vico, I.**, Rančić, D., Pajić, V., Backhouse, D. (2016): Comparative study of *Monilinia fructigena* and *Monilia polystroma* on morphological features, RFLP analysis, pathogenicity and histopathology. *European Journal of Plant Pathology* 144: 15-30.
5. Vasić, M., **Vico, I.**, Jurick II, W. M., Duduk, N. (2018): Distribution and characterization of *Monilinia* spp. causing apple fruit decay in Serbia. *Plant Disease* 102: 359-369.

Име и презиме ментора 2: др **Ивана Поточник**

Звање: **виши научни сарадник**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације

1. Kosanović, D., **Potočnik, I.**, Duduk, B., Vukojević, J., Stajić, M., Rekanović, E., Milijašević-Marčić, S. (2013): *Trichoderma* species on *Agaricus bisporus* farms in Serbia and their biocontrol. *Annals of Applied Biology*, 163: 218-230.
2. Kosanović, D., **Potočnik, I.**, Vukojević, J., Stajić, M., Rekanović, E., Stepanović, M., Todorović, B. (2015): Fungicide sensitivity of *Trichoderma* spp. from *Agaricus bisporus* farm in Serbia. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 50: 607-613.
3. Stanojević, O., Milijašević-Marčić, S., **Potočnik I.**, Stepanović, M., Dimkić, I., Stanković, S., Berić, T. (2016): Isolation and identification of *Bacillus* spp. from compost material, compost and mushroom casing soil active against *Trichoderma* spp. *Archives of Biological Sciences, Belgrade*, 68(4): 845-852.
4. Todorović, B., **Potočnik, I.**, Rekanović, E., Stepanović, M., Kostić, M., Ristić M., Milijašević-Marčić, S. (2016): Toxicity of twenty-two plant essential oils against pathogenic bacteria of vegetables and mushrooms. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 51(12): 832-839.

5. Milijašević-Marčić, S., Stepanović, M., Todorović, B., Duduk, B., Stepanović, J., Rekanović, E., **Potočnik, I.** (2017): Biological control of green mould on *Agaricus bisporus* by a native *Bacillus subtilis* strain from mushroom compost. European Journal of Plant Pathology, 148(3): 509-519.

Београд-Земун
Дана 24.05.2019. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

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

др Ивана Поточник, виши научни сарадник
Институт за пестициде и заштиту животне средине
Београд-Земун
(ужа научна дисциплина Фитопатологија)

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

Прилози:

- Прилог 1 - Списак саопштених и објављених научних и стручних радова кандидата;
- Прилог 2 - Списак литературе која ће се користити;
- Одлука већа Катедре за фитопатологију;
- Одлука наставно-научног већа Института за фитомедицину.

Прилог 1. Списак саопштених и објављених научних и стручних радова кандидата Јелене Луковић

Рад у међународном часопису верификованом посебном одлуком (M24)

Luković J., Stepanović M., Todorović B., Milijašević-Marčić S., Duduk N., Vico I. and Potočnik I. (2018): Antifungal activity of cinnamon and clove essential oils against button mushroom pathogens *Cladobotryum dendroides* (Bull.) W. Gams & Hooz, and *Lecanicillium fungicola* var. *fungicola* (Preuss) Hasebrauk. *Pesticides and Phytomedicine*, 33(1): 19-26.

Potočnik, I., Todorović, B., Rekanović, E., **Luković, J.**, Paunović, D. and Milijašević-Marčić, S. (2018): Impact of *Bacillus subtilis* QST713 mushroom grain spawn treatment on yield and green mould control. *Pesticides and Phytomedicine*, 33(3-4): 205-211.

Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу (M64)

Луковић, Ј., Вицо, И., Дудук, Н., Степановић, М., Милијашевић-Марчић, С., Рекановић Е. и Поточник И. (2016): Антифунгална активност етарских уља цимета и каранфилића на *Cladobotryum dendroides* (Bull.) W. Gams & Hooz., проузроковача паучинасте плесни шампињона. Зборник резимеа радова XV Симпозијума о заштити биља, 58-59.

Луковић, Ј., Ђуровић-Пејчев, Р., Поточник, И., Милијашевић-Марчић, С., Костић, И., Крњајић, С. и Костић, М. (2018): Антифунгална активност етарских уља анђелике и вилиног сита на *Trichoderma harzianum* Rifai и *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* Samuels & Gams, проузроковаче зелене плесни шампињона. XV саветовање о заштити биља, 26.11.-30.11. Златибор, Србија, Зборник резимеа, п 34.

Поточник, И., **Луковић, Ј.,** Тодоровић, Б., Рекановић, Е., Kredics, L., Hatvani, L. и Милијашевић-Марчић, С. (2018): Испитивање осетљивости *Trichoderma* spp., проузроковача зелене плесни буковаче, на фунгицид прохлораз. XV саветовање о заштити биља, 26.11.-30.11. Златибор, Србија, Зборник резимеа, п 38.

Прилог 2. Списак стручне литературе која ће се користити

- Adams, R. P. (2007): Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th edn. Allured Publishing Corporation, Illinois.
- Carrasco, J., Navarro, M.J., Santos, M. and Gea, F.J. (2017): Effect of five fungicides with different modes of action on mushroom cobweb disease (*Cladobotryum mycophilum*) and mushroom yield. *Annals of Applied Biology*, 171(1): 62-69.
- Chrysayi-Tokousbalides, M., Kastanias, M.A., Philippoussis, A. and Diamantopoulou, P. (2007): Selective Fungitoxicity of Famaxadone, Tebuconazole and Trifloxystrobin between *Verticillium fungicola* and *Agaricus bisporus*. *Crop Protection*, 26: 469-475.
- Dhingra, O. D. and Sinclair, J. B. (1995): *Basic Plant Pathology Methods*. CRC Press, Inc., Boca Raton, FO, USA, pp. 359.
- Druzhinina, I.S. and Kubicek, C.P. (2005): Species concept and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters. *Journal of Zhejiang University Science*, 6B: 100-112.
- Đurović-Pejčev, R., Potočnik, I., Milijašević-Marčić, S., Todorović, B., Rekanović, E. and Stepanović, M. (2014): Antifungal activity of six plant essential oils from Serbia against *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum*. *Pesticidi i fitomedicina*, 29(4): 291-297.
- Gea, F.J., Tello J. and Navarro M. (2010): Efficacy and effect on yield of different fungicides for control of wet bubble disease of mushroom caused by the mycoparasite *Mycogone perniciosa*. *Crop Protection*, 29: 1021-1025.
- Hatvani, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Druzhinina, I.S., Kubicek, C.P., Nagy, A., Nagy, E., Vagvolgyi, C. and Kredics L. (2007): Green mold diseases of *Agaricus* and *Pleurotus* are caused by related but phylogenetically different *Trichoderma* species. *Phytopathology*, 97: 532-537.
- Kim, C.S., Park, M.S., Kim, S.C., Maekawa, N. and Yu, S.H. (2012): Identification of *Trichoderma*, a competitor of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*), and competition between *Lentinula edodes* and *Trichoderma* species in Korea. *Plant Pathology Journal*, 28: 137-148.
- Komon-Zelazowska, M., Bissett, J., Zafari, D., Hatvani, L., Manczinger, L., Woo, S., Lorito, M., Kredics, L., Kubicek, C.P. and Druzhinina, I.S. (2007): Genetically closely related but phenotypically divergent *Trichoderma* species cause green mold disease in oyster mushroom farms worldwide. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 7415-7426.
- Kopchinskiy, A., Komon, M., Kubicek, C.P. and Druzhinina, I.S. (2005): *TrichoBLAST*: a multiloci database of phylogenetic markers for *Trichoderma* and *Hypocrea* powered by sequence diagnosis and similarity search tool. *Mycological Research*, 109: 658-660.
- Kosanović, D., Potočnik, I., Duduk, B., Vukojević, J., Stajić, M., Rekanović, E. and Milijašević-Marčić, S. (2013): *Trichoderma* species on *Agaricus bisporus* farms in Serbia and their biocontrol. *Annals of Applied Biology*, 163(2): 218-230.
- Kosanović, D., Potočnik, I., Vukojević, J., Stajić, M., Rekanović, E., Stepanović, M., Todorović, B. (2015): Fungicide sensitivity of *Trichoderma* spp. from *Agaricus bisporus* farm in Serbia. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 50: 607-613.
- Park, M.S., Bae, K.S. and Yu S.H. (2006): Two new species of *Trichoderma* associated with green mold of oyster mushroom cultivation in Korea. *Mycobiology*, 34: 11-113.

- Milijašević-Marčić, S., Stepanović, M., Todorović, B., Duduk, B., Stepanović, J., Rekanović, E., Potočnik, I. (2016): Biological control of green mould on *Agaricus bisporus* by a native *Bacillus subtilis* strain from mushroom compost. *European Journal of Plant Pathology*, 148(3): 509-519.
- Samuels, G.J., Dodd, S.L., Gams, W., Castlebury, L.A. and Petrini, O. (2002): *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia*, 94: 146-170.
- Sokal, R.R. and Rohlf, F.J. (1995): *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. 3 edn. New York, NY, USA: W.H. Freeman and Company.
- Wang, G., Cao, X., Ma, X., Guo, M., Liu, C., Yan, L. and Bian, Y. (2016): Diversity and effect of *Trichoderma* spp. associated with green mold disease, on *Lentinula edodes* in China. *MicrobiologyOpen*, 5(4): 709–718.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, pp. 315-322. Eds M.A. Innis, D.H. Gelfrand, J.J. Sninsky and T.J. White. San Diego, California, USA: Academic Press.
- Yu, S.H. (2002): Integrated control of oyster mushroom green mould (1-5). <http://www.mushworld.com>