

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Број захтева: 32/15-5.1.

Датум: 26.02.2020.

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

**за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији
за кандидата на докторским студијама**

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 186/15-пречишћени текст и 189/16), дате сагласност на одлуку о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације:

Кандидат **СЛОБОДАН (Горан) ДОЛАШЕВИЋ**, студент докторских студија на студијском програму Пољопривредне науке, модул Зоотехника, пријавио је докторску дисертацију под називом: „Утицај исхране на квалитет природно и вештачки добијених матица уз праћење степена експресије гена за вителогенин током развојних стадијума“

из научне области Зоотехника.

Универзитет је дана 13.06.2017. године, својим актом 02-08 Број: 61206-2200/2-17 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: **«УТИЦАЈ ИСХРАНЕ НА КВАЛИТЕТ ПРИРОДНО И ВЕШТАЧКИ ДОБИЈЕНИХ ПЧЕЛИЊИХ МАТИЦА УЗ ПРАЋЕЊЕ СТЕПЕНА ЕКСПРЕСИЈЕ ГЕНА ЗА ВИТЕЛОГЕНИН ТОКОМ РАЗВОЈНИХ СТАДИЈУМА»**.

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 27.11.2019. године, одлуком Факултета број 32/12-7.3. у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област, установа у којој је запослен

1. др Мића Младеновић, редовни професор у пензији од 01.10.2019. године, Одгајивање и репродукција домаћих и гајених животиња, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
2. др Јевросима Стевановић, ванредни професор, Биологија – ентомологија, Универзитет у Београду - Факултет ветеринарске медицине,
3. др Ненад Ђорђевић, редовни професор, Исхрана, физиологија и анатомија домаћих и гајених животиња, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
4. др Зоран Станимировић, редовни професор, Биологија - генетика, Универзитет у Београду - Факултет ветеринарске медицине,
5. др Горан Мирјанић, доцент, Пчеларство, Универзитет у Бања Луци - Пољопривредни факултет.

Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 26.02.2020. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА
Проф. др Душан Живковић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 32/15-5.1.
Датум: 26.02.2020. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 44. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 26.02.2020. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднео **СЛОБОДАН ДОЛАШЕВИЋ, дипл. инж.** и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«УТИЦАЈ ИСХРАНЕ НА КВАЛИТЕТ ПРИРОДНО И ВЕШТАЧКИ ДОБИЈЕНИХ ПЧЕЛИЊИХ МАТИЦА УЗ ПРАЋЕЊЕ СТЕПЕНА ЕКСПРЕСИЈЕ ГЕНА ЗА ВИТЕЛОГЕНИН ТОКОМ РАЗВОЈНИХ СТАДИЈУМА».**

II Универзитет је дана 13.06.2017. године, актом 02-08 број 61206-2200/2-17, дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у научном часопису који га квалификује за одбрану докторске дисертације:

Dolasevic S, Stevanovic J, Aleksic N, Glavinic U, Deletic N, Mladenovic M, Stanimirovic Z (2020): The effect of diet types on the some quality characteristics of artificially reared *Apis mellifera* queens, *Journal of Apicultural Research*, 59 (1) 115-123, DOI: 10.1080/00218839.2019.1673965
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00218839.2019.1673965>

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Душан Живковић)

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

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

Датум: 21. 12. 2019.

Предмет: Извештај Комисије о оцени урађене докторске дисертације Слободана Долашевића, маг. инж. пољопривреде

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета, Универзитета у Београду, бр. 32/12-7.3. од 27. 11. 2019. године именовани смо у Комисију за оцену и одбрану докторске дисертације маг. инж. пољ. Слободана Долашевића под насловом „Утицај исхране на квалитет природно и вештачки добијених пчелињих матица уз праћење степена експресије гена за вителогенин током развојних стадијума“.

Комисија у саставу: др Мића Младеновић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду (ментор 1); др Јевросима Стевановић, ванредни професор Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду (ментор 2); др Ненад Ђорђевић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду; др Зоран Станимировић, редовни професор Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду и др Горан Мирјанић, доцент Пољопривредног факултета Универзитета у Бања Луци, на основу прегледа докторске дисертације, подноси следећи:

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација маг. инж. пољ. Слободана Долашевића, написана је на укупно 93 страна у оквиру којих је 19 табела, 17 графика и 19 слика. У докторској дисертацији цитирано је 170 извора литературе.

Докторска дисертација садржи: Насловну страну на српском и енглеском језику; Информације о менторима и члановима комисије; Захвалницу; Резиме на српском и енглеском језику и приказ Садржаја. Докторска дисертација садржи осам поглавља, и то: Увод (стр. 1-2), Преглед литературе (стр. 3-31), Циљ рада (стр. 32), Материјал и метод рада (стр. 33-48), Резултати и дискусија (стр. 49-76), Закључак (стр. 77-78), Литература (стр. 79-90) и Прилог (стр. 91-93). Након главног текста приказана је Биографија аутора и обавезне Изјаве.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Увод – У овом поглављу кандидат нас упознаје како је савремено пчеларство постало веома осетљива грана пољопривреде где су све учесталији негативни утицаји агро-индустријализације на њену одрживост. Такође, у уводном делу изнета су и запажања кандидата која указују на скромност постојања научно-стручних радова са конкретним апитехничким саветима у процесу добијања квалитетнијих матица. Рад је представљен преко два аспекта, први у виду утицаја исхране на квалитет добијених матица, док је други аспект испитивање перманентног узнемиравања и манипулације друштава при комерцијалном добијању матица и вештачки одабир материјала од стране комерцијалног произвођача и компарација вештачки добијених матица са матицама пореклом из природног нагона.

Преглед литературе - У овом поглављу кандидат је приказао резултате других аутора а који су у уској вези са испитиваном тематиком и проблематиком. Преглед литературе изнет је у виду седам поглавља насловљени као: 2.1. *Пчелиња матица*; 2.2. *Морфолошко-репродуктивне карактеристике као мера квалитета пчелиње матице*; 2.3. *Утицај исхране на добијање матичњака*; 2.4. *Исхрана друштава, потреба за шећерима и протеинима*; 2.5. *Експресија гена за вителогенин (Vg)*. Поглавље 2.2. је подељено у два потпоглавља 2.2.1. *Телесна маса матица* и 2.2.2. *Јајник, маса јајника и број јајних цевчица*.

У поглављу 2.1. изнет је значај пчелиње матице у друштву, зависност друштва и њеног квалитета, као и утицај исхране (укључујући фактор околине) која доводи до епигенетичких промена (као и испољавање полифенизма у пчелињем свету). Набројане су и одређене физичке карактеристике репродуктивног тракта квалитетних матица од којих је већина анализирано касније током рада.

У поглављу 2.2.1. наведени су новији радови (од којих је већина након 2008. године) који обрађују значај телесне матице као физичке величине која је неопходна у евалуацији потенцијала њеног квалитета и будућег репродуктивног потенцијала. При наведеним радовима стиче се јасна слика о факторима који утичу на масу матица, међу којима спадају генотип, старост ларве при пресађивању, период године, тренутак мерења матица и сл. Такође наводе се и узроци варијабилности овог параметра услед њеног сазревања и достизања полне зрелости, разлике између неспарених и спарених матица као и њиховог репродуктивног статуса. Наведене су и корелације између маса матица и тежине јајника, броја овариола, дијаметра сперматека, дужине крила, величине главе и сл. Наведене су просечне масе матица као и њихова подела према телесним масама уз навођење референци.

У поглављу 2.2.2. сажета је морфологија оваријума и процес оогенезе. Описана је корелација између репродуктивних параметара пчелињих матица у форми табеле. Иако није директно везано за испитивану проблематику, кандидат укратко и концизно представља утицај исхране и на пчеле радилице, који се могу довести у индиректну повезаност са утицајем исхране на пчелиње матицама.

У поглављу 2.3. испитује се утицај исхране при добијању матичњака. Наведене су потребе у исхрани радиличних ларви као и утицај броја матичњака, број пчела, методе производње матичњака као и положај матичњака на раму, а што се све имплицитно доводи у везу са њиховом негом тј. исхраном.

Поглавље 2.4. се наставља и проширује, са потребе ларви, на потребе и исхрану друштава за шећерима и протеинима.

У поглављу 2.5. исказан је преглед литературе са циљем представљања досадашњих сазнања која су у вези са експресијом гена за вителогенин. Кандидат нас кроз велики број навода уводи у поменућу проблематику, те наводи одређене параметре који имају утицај на експресију гена за вителогенин међу којима су исхрана, здравствени статус, употреба пестицида, порекло ткива, старости организма и сл.

Циљеви рада - У поглављу 3. наведени су следећи циљеви:

- Испитивање утицаја четири начина исхране одгајивачких друштава на: пријем матичњака; квалитет матичњака (преко његове три димензије (дужина матичњака, ширина матичњака и дијаметар отвора матичњака); тежину добијених новоизлежених матица; масе спарених матица; тежину јајника; број јајних цевчица; дијаметар сперматеке и производно-репродуктивне особине код спарених матица (преко компактности легла и броја произведених пчела).
- Поређење квалитета ројидбених и комерцијално добијених пчелињих матица преко следећих морфолошко-репродуктивних параметара: масе матица, тежине јајника, броја јајних цевчица, дијаметра сперматеке и производно-репродуктивних особина (компактности легла и броја произведених пчела).
- Поређење нивоа експресије гена за вителогенин између третман група и контролне групе.
- Анализа експресије гена за вителогенин између развојних стадијума пчелињих матица: јајета (1-3 дана), ларве (4-5 дана), предлутке (9-11 дана), лутке (12-14 дана), једнодневних матице и јајника спарених матица у контролној (N) групи.
- Поређење нивоа експресије вителогенина у јајницима матица добијених у групама комерцијалног начина одгоја (четири типа исхране) и матица изведених из ројидбених матичњака.

Материјал и метод рада - У почетку овог поглавља кандидат почиње са дефинисањем тачног локалитета и расе са којом је експеримент рађен. Формирано је по пет одгајивачких друштава у којима су се производили матичњаци у четири испитиване групе, као и пета, ројидбена група. Потом, наводи се детаљан метод изједначавања пчелињих друштава, уз наводе *Delaplane i sar.*, (2013), као и предности специјализованог контејнера у коме се одвијала производња матичњака.

Прихрањивања друштава трајало је 10 дана пре пресађивања, што је дуже од планираних 7 дана како би се повећало време деловања тестираних типова исхране. Група Р је уместо планиране прихране са 70:30 шећерног сирупа и меда, добијала 45% шећерног сирупа са 30% меда и 25% полена. Дакле испитивани су следећи типови исхране:

- Исхрана 1. Шећерни сируп (1:1 шећер : вода) и шећерна погача без додатака, тзв. „0“ погача (S група).
- Исхрана 2. Шећерни сируп са додатком 30% меда и 25% полена и шећерна погача са додатком 25% полена (Р група).
- Исхрана 3. Шећерни сируп са додатком замене за полен под комерцијалним називом суплемента *FeedBee® (Nutrifeed, Canada Inc.)* и шећерна погача са додатком истог суплемента (F група) (према произвођачкој спецификацији).

- Искрана 4. Без прихране (остављена на сопственим залихама хране), контролна група (N група).

У дисертацији приложен је и нутритивни састав суплемента *FeedBee®*.

Искрана је у првих десет дана била форсирана и без ограничавања приступа, док се по пресађивању примењивао други систем прихране - приступ храни био је ограничен. Ограничењем хране обезбедио се континуитет за све време неге матичњака уз минимално узнемиравање друштава и ремећење исхране матичних ларви. Осим поменутог, кандидат је пратио и стање уноса нектара и утицао на блокаду поленског уноса (помоћу подњача за сакупљање поленовог праха) како би умањио ефекат околине на квалитет произведених матичњака а самим тим и будуће добијене резултате.

Потом, кандидат подробно описује и наводи период пресађивања, порекло ларви, број пресађених ларви, формирање резерви, начин добијања спарених матичњака и сл. У овом делу поглавља дат је опис формирања и организације самих оплодњака. Приложен је и графички приказ огледа.

Даље, кандидат износи начин одређивања квалитета матица директно, преко физичко-морфолошких особина матица као и индиректно, преко параметара нуклеуса. Под индиректним параметрима у процени квалитета матица наводи се снага нуклеуса преко броја индивидуалних пчела мерена помоћу компјутерског програма, као и компактност легла исказана преко два начина, максимална компактност (L_{max}) и просечна компактност ($L\bar{x}$). У наставку су детаљно описани директни параметри физичко-репродуктивних особина матица у које спадају телесне масе, број овариола, дијаметар сперматека и тежине оваријума са детаљним описом методологије мерења.

Поред поменутих мерења, спроведена су и додатна испитивања и мерења матичњака где је анализирано 120 матичњака, где спадају телесне масе неспарених матица и три димензије матичњака.

У поглављу *Материјал и метод рада* кандидат истиче и типове и начин узорковања за потребе експресије гена за вителогенин. За развојне стадијуме пчелињих матица који су током огледа анализирани за потребе експресије гена за вителогенин анализирани су следећи стадијуми:

- Стадијум јајета (1-3 дана), 8 узорака добијених из рама изолатора ($\Sigma=8$)
- Стадијум ларве (4-5 дана), 8 узорака добијених из рама изолатора ($\Sigma=8$)
- Стадијум предлутке (9-11), по 8 узорака добијених из припадајућих кошница четири група ($\Sigma=32$)
- Стадијум лутке (12-14 дана), по 8 узорака добијених из припадајућих кошница четири група ($\Sigma=32$)
- Стадијум адулта (једнодневних матица), по 8 узорака добијених из припадајућих кошница четири група ($\Sigma=32$)
- Стадијум спарених матица (један јајник), по 8 узорака-матица пореклом од 5 група - добијених из нуклеуса (укључујући ројидбену групу) ($\Sigma=40$). Укупан број узорака за испитивање експресије вителогенина, као и ендogene контроле β -актина износио је 152 - 8 јаја, 8 ларви, 32 предлутки, 32 лутки, 32 имага-једнодневних матица и 40 јајника спарених матица (укључује ројидбену групу). Ројидбени матичњаци пре спаривања нису анализирани због неуједначене старости.

Екстракција РНК извршена је коришћењем комерцијалног сета *Quick-RNA MiniPrep Kit (Zymo Research)*. У складу са типом узорка и његовом величином, коришћена

је различита количина пуфера за лизирање (*Lysis Buffer*) и *PBS* пуфера. Након лизирања, независно од врсте узорка, поступак је био исти.

Реверзна транскрипција којом је из изоловане РНК преведена у *cDNK* вршена је помоћу сета *RevertAid Reverse Transcriptase (Thermo Scientific)*.

Нивои експресије гена мерени су на *real-time PCR* апарату „*Rotor-Gene Q 5plex*“ (*Qiagen*).

За мерење нивоа експресије гена у узорцима коришћена је метода *qRT-PCR* са компаративном $\Delta\Delta C_t$ анализом (*Livak i sar., 2001*). За нормализацију синтетисане *cDNK* у узорцима је коришћена ендогена контрола β -актин, а као калибратор је одабрана медијана нормализованих вредности за експресију гена развојних стадијума матица из контролне групе.

Формула по којој је израчуната релативна вредност количине експресије гена је:

$$Q = 2^{-\Delta\Delta C_t},$$

где је $\Delta\Delta C_t = \Delta C_t$ узорак – ΔC_t калибратор

(C_t вителогенин – C_t β -актин) – (C_t вителогенин, калибратор – C_t β -актин, калибратор)

Нивои експресије гена праћени су употребом *Sybr-Green* технике према протоколу сета *KAPA SYBR FAST qPCR Kit Master Mix (2X) Universal (KAPA Biosystems)*. Прајмери су наведени према називу и дате су секвенце у смеру 5' – 3':

Beta actin-F: TTGTATGCCAACACTGTCCTTT

Beta actin-R: TGGCGCGATGATCTTAATTT

VgMC-F: AGTTCCGACCGACGACGA

VgMC-R: TTCCCTCCCACGGAGTCC

Резултати и дискусија – У овом поглављу кандидат је изложио целокупне резултате испитивања представљене у оквиру четири поглавља. Добијене вредности исказане су табеларно и приказ резултата је прегледан. Након табеларног приказа текстуални део шире описује и анализира добијене резултате.

У потпоглављу 5.1. први параметар који је био изложен односи се на број повучених матичњака, где је просечан број матичњака износио 20,6 (од укупно 24 пресађених) за S групу, 15,75 за Р групу, 16,6 за F групу и 10,8 за N групу. Након представљања процената повлачења матичњака по групама, следи анализирање добијених вредности као и опсежна компарација са вредностима добијених од стране иностраних аутора.

У потпоглављу 5.2. изложена су три параметра величине матичњака и телесне масе неспарених матица, такође табеларно представљене. Телесна маса једнодневних матица у S групи износила је 204,1 мг, Р групи 179,3 мг, у F групи 187,9 мг и у N групи 188,1 мг. Највиша вредност телесних маса матица забележена је код S групе, где је износила 204 мг.

Дужина матичњака износила је 27,18 мм у S групи, 26,51 мм у Р групи, 24,91 мм у F групи и 27,88 мм у N групи. У погледу дужина, матичњаци из F групе значајно су краћи у поређењу са матичњацима S и N групе. За разлику од претходно поменутих вредности, где су постојале статистички значајне разлике, разлике у дијаметру отвора матичњака као и ширине матичњака нису биле сигнификантне. Такође, израчунате су и корелације

између одређених особина, тако је, на пример, ширина матичњака у слабој позитивној корелацији са телесном масом матица ($r = 0,271$) као и дужином матичњака ($r = 0,241$), док је дијаметар отвора матичњака у средњој позитивној корелацији са дужином ($r = 0,332$) (табела 6). Корелација између осталих особина матичњака и једнодневних матица није била сигнификантна.

У потпоглављу 5.3. приказане су разлике у масама (спарених) матица код различитих група где је маса у S групи износила 216,9 мг, у Р групи 227,7 мг, F групи 201,0 мг, N групи 221,8 мг и 206,3 мг у ројидбеној групи. Услед наведеног, различит тип исхране имао је утицаја на тежину спарених матица, тако да је Р група дала теже матице од F и ројидбене групе. Просечна маса матица у спроведеном огледу у сагласности су са другим радовима.

Након мерења телесних маса матица, следила је дисекција добијених спарених матица. Број дисекованих матица износио је 8 по свакој групи где је укупан број износио 40. Све добијене вредности су табеларно приказане и статистички обрађене.

За разлику од досадашњих вредности наведених параметара које су биле у сагласности са вредностима других аутора, добијене вредности у маси јајника нису биле у складу са раније објављаним вредностима. Кандидат наводи да је просечна маса јајника за све испитиване групе износила 115,8 мг.

Добијене разлике у броју јајних цевчица, услед различите исхране, биле су изражене. Просечан број јајних цевчица у S групи износио је 152,38, у Р групи 164,63, у F групи 141,63, у N групи 147,88, док је број јајних цевчица код ројидбене групе износио 147,63. Статистички значајно виши број јајних цевчица имале су матице из Р групе у поређењу са осталим групама. Овим се доказало да се при додатку меда и полена као природне хране битно може утицати на повећање броја јајних цевчица. Матице из Р групе поседовале су 8% више овариола у односу на S групу, 14% више овариола у односу на F групу и 10% више у односу на N и ројидбену групу. Матице из Р групе поседовале су 9% више овариола у односу на просек свих испитиваних група.

У раду је испитиван и дијаметар сперматеке, где је добијена средња вредност код свих испитиваних група износила 1,24 мм. Сперматеке пореклом из Р групе дале су боље резултате у поређењу са ројидбеним матицама али су биле у рангу са преосталим групама.

Након приказа, анализе и дискусије директних параметара квалитета матица, кандидат анализира индиректне параметре квалитета матица. Међу овим параметрима спада снага друштва (нуклеуса) на основу његовог броја пчела и компактности легла на једном раму. Максимална компактност је изражена преко поклопљених ћелија у једном пољу (10x10) на најбољем делу рама (L_{max}), док је просечна компактност представљена преко четири најбоља поља са леглом (10x10) подељена бројем четири ($L_{\bar{x}}$). Компактност легла, како у максималним тако и у просечним вредностима, није показала значајност разлика код испитиваних група.

Након оцене и анализе компактности легла следи представљање процене броја пчела. Број пчела је једини параметар који је показао супериорност природно добијених матица у односу на вештачки добијене матице. Матице добијене природним путем имале су већи број пчела у поређењу са F групом док у поређењу са осталим групама није било статистички значајне разлике.

Кандидат је изложио и корелације испитиваних параметара. Тако је уочена позитивна корелација између телесних маса матица и масе јајника ($r = 0,666$), броја овариола ($r = 0,452$) и дијаметра сперматеке ($r = 0,364$). Добијена је и позитивна корелација између масе јајника и броја овариола ($r = 0,465$). Добијене корелације указују да ће теже матице поседовати већу масу јајника, већи број овариола и већу запремину сперматеке, што је битан фактор у процени њеног квалитета. Такође, графички су представљене линеарне регресије поменутих особина.

У потпоглављу 5.4. су укупни резултати анализе вителогенина приказани у 5 табела и 8 графикана. Током онтогенезе није утврђена статистичка значајна разлика у нивоу експресије вителогенинског гена између третмана у односу на контролу (N група), те није било оправдано анализирати корелацију нивоа експресије гена за вителогенин и тежине (масе) испитиваних матица. Ниво експресије вителогенинског гена ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) код предлутки, лутки, матица и јајника у односу на N групу приказан је у одвојеним табелама.

Тестирани су и нивои експресије вителогенинског гена нормализован према гену за β -актин, у различитим стадијумима развића, у односу на јаје контролне (N) групе. Приметан је пораст активности вителогенинског гена према адултном стадијуму. Највећа активност овог гена била је забележена код једнодневних матица (9,56 x у односу на јаје), која се значајно разликовала од стадијума јајета (1 x) и ларве (3,72 x), али се није значајно разликовала у односу на стадијум предлутке (6,21 x), лутке (6,78 x) и у односу на јајник спарене матице (6,85 x). У поређењу са поменутих, поређења нивоа експресије вителогенинског гена нормализован према гену за β -актин, са апсолутним вредностима довело је до сигнификантне разлике у експресивности вителогенина између стадијума јајета и јајника (спарених) матица (N) групе. Такође, експресије исказане у апсолутним вредностима указују на то да се највеће експресије и активности испитиваног гена испољило код адултних, неспарених матица. Код матица забележена је 4,6 пута већа експресија него код стадијума јајета. У поређењу са ларвама, експресија испитиваног гена код матица била је три пута већа. Статистички значајна разлика је и у компарацији јајета са стадијумима предлутке, лутке, матице и јајника матица. Стадијум јајета у овим поређењима је забележило најмању експресивност.

Кандидат истиче, да је према досадашњим наводима, иРНК вителогенина код матица најпре детектована у стадијуму ране-средње фазе лутке, док је код радилица први пут детектована у касној фази лутке. Допринос ове студије се огледа и у томе што је детектована и доказана експресија вителогенина у ранијим фазама развоја од раније наведених.

Закључак – У овом поглављу кандидат је изнео закључке до којих је дошао на основу истраживања:

1. Исхрана одгајивачких пчелињих друштава шећером значајно је стимулисала пријем матичњака, јер је у групи храњеној шећером био најбољи пријем матичњака (85,8%) у односу на све остале групе и проценат и при томе значајно већи ($P<0.05$) у односу на контролну групу (45,0%), указујући да је прихрањивање пчела током производње матичњака неопходно како би се побољшао проценат пријема.

2. Исхрана одгајивачких друштава шећером позитивно је утицала на тежину новоизлежених пчелињих матица јер је у групи храњеној шећером просечна телесна маса тих матица била значајно већа ($P<0.001$) у односу на све остале групе.

3. Исхрана одгајивачких друштава медом и поленом дала је најбољи ефекат када је у питању маса спарених матица, јер су матице из групе храњене медом и поленом имале значајно већу ($P<0.05$) телесну масу од матица из групе која је добијала *FeedBee*®, као и од матица из ројидбене групе.

4. Исхрана медом и поленом допринела је повећању броја оваријалних цевчица и дијаметра сперматеке, с обзиром да је код матица из групе храњене медом и поленом забележено значајно више ($P<0.01$) оваријалних цевчица у односу на матице из свих осталих група, односно 8% више у односу на групу која је добијала само шећер, 14% више у односу на групу која је добијала *FeedBee*® и 10% више у односу на контролну и ројидбену групу. Такође, матице из групе храњене медом и поленом имале значајно већу ($P<0.05$) вредност овог параметра у поређењу са ројидбеним матицама. Овим је доказано да додатком природне хране (меда и полена) битно можемо повећати репродуктивни потенцијал матица.

5. Тип исхране није статистички значајно утицао на компактност легла спарених матица у првих шест недеља њихове носивости.

6. Ројидбене матице су имале значајно већи број пчела ($P<0.05$) у односу на матице из групе која је добијала *FeedBee*®, док између свих осталих група није било значајних разлика у погледу овог параметра.

7. Ројидбене матице имале су значајно мањи ($P<0.01$) број јајних цевчица и значајно мање вредности ($P<0.05$) телесне масе и дијаметра сперматеке у поређењу са матицама из групе која је храњена медом и поленом. То значи да при комерцијалном узгоју матица са адекватном стимулативном исхраном (мед и полен) могу да се остваре бољи резултати, него при добијању ројидбених матица.

8. *FeedBee*® није испољио позитиван ефекат на дужину матичњака, с обзиром да су матичњаци из групе која је добијала *FeedBee*® били значајно краћи ($P<0.01$) у односу на матичњаке из групе храњене шећером и контролне групе.

9. Ширина матичњака је била у слабој позитивној корелацији са телесном масом матица ($r = 0,271$) као и дужином матичњака ($r = 0,241$), док је дијаметар отвора матичњака био у средњој позитивној корелацији са дужином матичњака ($r = 0,332$).

10. Значајна корелација утврђена је између телесне масе матица и масе јајника ($r = 0,666$), броја овариола ($r = 0,452$) и дијаметра сперматеке ($r = 0,364$), као и између масе јајника и броја овариола ($r = 0,465$).

11. Тип исхране није утицао на експресију гена за вителогенин јер нису нађене статистички значајне разлике у нивоу експресије гена за вителогенин у свим испитиваним развојним стадијума између третман група и контролне (N) групе.

12. Између стадијума пчелињих матица утврђене су значајне разлике ($P < 0.05$) у нивоу експресије гена за вителогенин, при чему је активност гена за вителогенин расла током онтогенезе контролне (N) групе.

13. Највећа активност вителогенинског гена била је код адултних матица и била значајно ($P < 0.05$) већа у односу на стадијум јајета и ларве, али се није значајно разликовала у односу на стадијум предлутке, лутке и у односу на ћелије јајника матице. Активност вителогенинског гена била је значајно већа ($P < 0.05$) и код стадијума предлутке и лутке у односу на јаје.

14. Између вештачки узгојених и ројидбених матица нису утврђене статистички значајне разлике у експресији вителогенинског гена код ћелија јајника спарених матица.

Литература – У дисертацији је на правилан начин наведено 170 референци. Избор референци је актуелан и одговара предмету проучавања.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

На основу изнетог, докторска дисертација маг. инж. пољ. Слободана Долашевића представља самостални научни рад у области нутригеномике и узгајања пчелињих матица. Резултати докторске дисертације имају значај како за науку, тако и за пчеларску праксу јер су добијени подаци апликативног карактера. Кандидат је испитивао утицај исхране на квалитет добијених матица, где је установио да је прихрана са додатком меда и полена остварила најбоље резултате. Сем добијених података, кандидат је систематски проучио резултате истраживања других аутора, услед чега их је доводио у узајмну везу приликом дискусије. Спровођене огледа је технички доста захтевно и мукотрпно, где је кандидат потврдио своје велико пчеларско искуство у узгајању и добијању спарених матица. Када је у питању експресија гена за вителогенин, кандидат је користио више различитих модела и метода како би детерминисао разлике у добијеним резултатима. Добијени подаци овога рада значајан су допринос пчеларској науци и пракси. Истраживања у овој докторској дисертацији су урађена у сагласности са планом и програмом који је предложен у Пријави.

На основу горе наведеног, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију маг. инж. пољ. Слободана Долашевића под насловом " **Утицај исхране на квалитет природно и вештачки добијених пчелињих матица уз праћење степена експресије гена за вителогенин током развојних стадијума**" и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену и омогући кандидату јавну одбрану.

Датум: 21. 12. 2019.

Чланови комисије:

др Мића Младеновић, редовни професор
Ужа научна област: Одгајивање и репродукција домаћих и
гајених животиња,
Пољопривредни факултет Универзитета у Београду

др Јевросима Стевановић, ванредни професор,
Ужа научна област: Биологија – ентомологија,
Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

др Ненад Ђорђевић, редовни професор,
Ужа научна област: Исхрана, физиологија и анатомија
домаћих и гајених животиња,
Пољопривредни факултет Универзитета у Београду

др Зоран Станимировић, редовни професор,
Ужа научна област: Биологија - генетика,
Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду

др Горан Мирјанић, доцент,
Ужа научна област: Пчеларство,
Пољопривредни факултет Универзитета у Бања Луци

Прилог:

Сепарат објављеног рада маг. инж. пољ. Слободана Долашевића у научном часопису са SCI листе (категорија **M22**, **IF=1.752**)

Dolasevic S, Stevanovic J, Aleksic N, Glavinic U, Deletic N, Mladenovic M, Stanimirovic Z (2020): The effect of diet types on the some quality characteristics of artificially reared *Apis mellifera* queens, *Journal of Apicultural Research*, 59 (1) 115-123, DOI: 10.1080/00218839.2019.1673965

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00218839.2019.1673965>

**ОЦЕНА ИЗВЕШТАЈА О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

под насловом:

**„Утицај исхране на квалитет природно и вештачки добијених пчелињих матица уз
праћење степена експресије гена за вителогенин током развојних стадијума“,
аутора маст. инж. пољ. Слободана Долашевића**

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, и на основу Извештаја Универзитетске библиотеке „Светозар Марковић“ у коме су резултати програма *iThenticate* којим је извршена провера оригиналности дисертације под насловом **„Утицај исхране на квалитет природно и вештачки добијених пчелињих матица уз праћење степена експресије гена за вителогенин током развојних стадијума“, аутора маст. инж. пољ. Слободана Долашевића**, изјављујемо да је утврђено подударање текста од 6%. Овај степен подударности последица је подударања текста са личним именима и институцијама, презименима аутора и година радова цитираних у тексту, неизбежних подударања у методологији (нпр. назива појединих метода, комерцијалних назива сетова хемикалија и сл.) општих места и статистичких фраза, резултатима рада публикованим од стране аутора (проистеклог из његове дисертације) и библиографским подацима из списка коришћене литературе,. Након искључивања набројаних подударања, што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујемо да наведени Извештај Универзитетске библиотеке **указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.**

У Београду,
21. 12. 2019. год.

Ментори:

др Мића Младеновић, редовни професор (ментор 1)
Ужа научна област: Пчеларство,
Пољопривредни факултет Универзитета у Београду

др Јевросима Стевановић, ванредни професор (ментор 2)
Ужа научна област: Биологија – ентомологија,
Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду