

Факултет Пољопривредни

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

Веће научних области
биотехничких наука

32/9-6.2.

(Број захтева)

29.06.2022.

(Датум)

(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:

„Црна пегавост босиљка – карактеризација проузроковача и утицај на принос надземног дела,
садржај и квалитет старског уља“
(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ Фитомедицина

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

1.

Сара, Драган, Микић

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

Универзитет у Београду

Пољопривредни факултет, Фитомедицина

3. Година завршетка

претходног нивоа студија: 2019.

4. Година уписа на докторске студије: 2019/2020.

5. Назив студијског програма
докторских студија:

Пољопривредне науке, модул Фитомедицина

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ:

Име и презиме ментора: др Ивана Вицо

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Duduk B., Duduk N., Vico I., Stepanović J., Marković T., Rekanović E., Kube M., Radanović D. (2019): Chamomile floricolous downy mildew caused by *Peronospora radii*. *Phytopathology* 109: 1900-1907.
2. Vojvodić, M., Tanović, B., Mitrović, P., Vico, I. and Bulajić, A., (2020). *Waitea circinata* var. *zeae* causing root rot of cabbage and oilseed rape. *Plant Disease*, 105: 787-796.
3. Žebeljan A., Vico I., Duduk N., Žiberna B., Urbanek Krajnc A. (2021): Profiling changes in primary metabolites and antioxidants during apple fruit decay caused by *Penicillium crustosum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 113: 101586.
4. Žebeljan A, Duduk N, Vučković N, Jurick WM II, Vico I. (2021): Incidence, Speciation, and Morpho-Genetic Diversity of *Penicillium* spp. Causing Blue Mold of Stored Pome Fruits in Serbia. *Journal of Fungi*, 7: 1019.
5. Vučković, N., Vico, I., Duduk, B., and Duduk, N. (2022). Diversity of Botryosphaeriaceae and Diaporthe species associated with postharvest apple fruit decay in Serbia. *Phytopathology*, 112: 929-943.

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће Пољопривредног факултета

на седници одржаној 29.06.2022. 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: 29.06.2022. 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 29.06.2022. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ тема докторске дисертације коју је поднела **САРА МИКИЋ, мастер** и одобрава израда дисертације под насловом: **«ЦРНА ПЕГАВОСТ БОСИЉКА – КАРАКТЕРИЗАЦИЈА ПРОУЗРОКОВАЧА И УТИЦАЈ НА ПРИНОС НАДЗЕМНОГ ДЕЛА, САДРЖАЈ И КВАЛИТЕТ ЕТАРСКОГ УЉА».**

II За ментора се именује др Ивана Вицо, редовни професор Универзитета у Београду - Пољопривредног факултета.

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 Сара Микић, 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 01.06.2022. године

Београд - Земун

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ФАКУЛТЕТА

Предмет: *Извештај Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Саре Микић, 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 25.05.2022. године, донело је одлуку бр. 32/8-3.3. да се образује Комисија у саставу др Ивана Вицо, редовни професор, Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет (ужа научна област Фитопатологија), др Наташа Дудук, редовни професор, Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет (ужа научна област Фитопатологија) и др Татјана Марковић, научни саветник, Институт за проучавање лековитог биља „др Јосиф Панчић“ (ужа научна дисциплина: Лековито биље) за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Саре Микић, мастер инж., под насловом:

Црна пегавост босиљка – карактеризација проузроковача и утицај на принос надземног дела, садржај и квалитет етарског уља

Кандидат је дана 30.05.2022. године одбранио пријављену тему докторске дисертације, а потписан записник предат је у Студентску службу 30.05.2022. године. У име Комисије председник др Ивана Вицо, редовни професор, подноси

ИЗВЕШТАЈ

1. Основни подаци о кандидату и дисертацији

1.1 Биографија кандидата

Мастер инжењер пољопривреде Сара Микић, рођена је 29.5.1995. године у Београду. Пољопривредни факултет, Универзитета у Београду, Одсек Фитомедицина завршила је 2018. године са општим успехом 9,40. Дипломски рад под називом „Молекуларна идентификација *Ilyonectria robusta* патогена црног бора“ одбранила је са оценом 10. Мастер студије на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, Одсек Фитомедицина завршила је 2019. године са општим успехом 10,00. Мастер рад под називом: „Испитивање здравственог стања семена коријандера и могућност дезинфекције етарским уљем питоме нане и ловора“ одбранила је са оценом 10.

Докторске студије на Одсеку за Фитомедицину, Катедри за Фитопатологију уписала је школске 2019/20 године. Након уписа на докторске студије, истраживачки рад обавља на Пољопривредном факултету, Лабораторији за постжетвену фитопатологију и у Институту за проучавање лековитог биља „Др Јосиф Панчић“, у Одсеку за

Пољопривредна истраживања и развој, где је и запослена од јануара 2020. године. У звање истраживач приправник изабрана је 1.1.2020. године.

Члан је Друштва за заштиту биља Србије. Похађала је Online International Training Workshop „Modern Breeding and Cultivation Technology of Vegetables“ у организацији Кинеске академије Пољопривредних наука, Института за поврће и цвеће, Пекинг, Кина (8–26. 11. 2021. године). Објавила је 1 рад из категорије M24 и саопштила 13 радова на домаћим и међународним скуповима (Прилог 1.).

Говори, чита и пише енглески језик.

1.2 Предлог теме докторске дисертације

Предложена тема докторске дисертације **„Црна пегавост босиљка – карактеризација проузроковача и утицај на принос надземног дела, садржај и квалитет етарског уља“** је добро одмерена и у потпуности одражава предвиђене циљеве, програм и предмет истраживања и пружа јасну слику о томе шта ће бити урађено и шта се може очекивати од истраживања која ће бити спроведена.

2. Предмет и циљ дисертације

2.1 Предмет и програм истраживања

Босиљак (*Ocimum basilicum* L.) је једногодишња зељаста, украсна, зачинска, лековита и мирисна биљка из фамилије *Lamiaceae* (Степановић и Радановић, 2011). Центар биодиверзитета ове врсте је Индија, Иран, југоисточна Азија и централна Африка. Највише се гаји у Италији на око 80 ha, потом у Француској на 30 ha и у Израелу на око 20 ha. У Србији, босиљак се у прошлости није гајио на већим површинама, али се последњих година све више гаји и код нас у Војводини (Кишгеци и сар. 2009; Степановић и Радановић, 2011). Користи се у свежем или сувом стању за ароматизацију хране, справљање чаја и ликера. Надземни део биљке (*Basilici herba*) се користи у традиционалној и хомеопатској медицини за лечење већег броја болести, а употребљава се и као карминатив, седатив, лактагог и за побољшање апетита. Етарско уље босиљка (*Basilici aetheroleum*) испољава бројна корисна својства, јер делује бактерицидно, фунгицидно, антивирално, репелентно, антиоксидативно, антидијароично, хемопревентивно и радиопротективно (Кишгеци и сар. 2009).

Појава болести може значајно умањити принос и квалитет лековитог биља. У значајније болести босиљка убрајају се фузариозно увенуће, чији произроковачи су *Fusarium* spp., полегање клијанаца проузроковано *Pythium* spp. и пламењача коју изазива псеудогљива *Peronospora belbahrii* (McLeod et al., 2006). На босиљку се јавља и обољење у свету описано као црна пегавост или лисна пегавост. Испољава се појавом тамносмеђих пега оивичених жутиим ореолом на листу и стаблу које могу довести до дефолијације, а некад и потпуног пропадања биљке. Ова болест босиљка и њен проузроковач, *Alternaria alternata*, у свету су први пут описани у Јапану 2009. године (Taba et al., 2009), а у Европи 2011. године у Италији (Garibaldi et al., 2011). Црна пегавост босиљка је присутна и у Калифорнији, Флориди, Пакистану и Израелу (Farr and Rossman, 2017), а већина *Alternaria* spp. изолата из босиљка припадају секцији *Alternaria*, најчешће врсти *A. alternata* и ређе врстама *A. arborescens* комплекса (Siciliano et al., 2018; Matić et al., 2020).

Род *Alternaria* обухвата широко распрострањене сапробне, ендофитне и фитопатогене врсте гљива, а њихове споре су најчешћи и најснажнији алергени пореклом

из ваздуха (Woudenberg et al., 2013). Фитопатогене врсте могу проузроковати економске штете у пољу и током складиштења, а губици који су последица инфекције врстама рода *Alternaria*, а нарочито секције *Alternaria*, огледају се и у контаминацији микотоксинима. *A. alternata* је једна од најзначајнијих токсигених врста рода *Alternaria* и синтетише већи број микотоксина међу којима су најзначајнији алтернариол 1 (АОН), алтернариолмонометилетар (АМЕ), алтенуен (АЛТ) и тетуазоинска киселина (ТеА) (Pinto and Patriarca, 2017). Врсте рода *Alternaria* се одржавају на зараженим остацима, семену и коровима, а лако се шире ветром, водом и инсектима. За одржавање и ширење фитопатогених врста семе има велики значај (Simmons 2007; Gilardi et al., 2013).

Таксономија и класификација врста рода *Alternaria* прошла је кроз већи број рекласификација, које се и данас сматрају незавршеним (Simmons, 2007; Woudenberg et al., 2013; 2015; Lawrence et al. 2016; DeMers, 2022). Класификација се највише ослања на морфолошке и молекуларне карактеристике врста, а од значаја су и однос према домаћину, као и анализа метаболита (Lawrence et al. 2016; DeMers, 2022). Морфолошке таксономске карактеристике рода *Alternaria* обухватају облик, боју, септираност конидија, и начин спорулације. Врсте овог рода карактеришу тамне, вишећелијске, меланизоване конидије са попречним и уздужним преградама (феодиктиоспоре), са апикалним кљуном или суженим апикалним ћелијама, које се формирају у ланцима (*catenulate*) или појединачно (Simmons, 2007). Молекуларне карактеристике врста у оквиру рода *Alternaria* не преклапају се увек са морфолошким. На основу мултилокус филогенетске анализе и анализе целих генома, издвојене су се филогенетске групе у оквиру рода (Lawrence et al. 2016; Woudenberg et al. 2013; 2015). Због тога се идентификација врста рода *Alternaria* заснива на испитивању морфолошких карактеристика у стандардизованим условима гајења (Simmons, 2007) и молекуларних карактеристика изолата заснованих на анализи више региона међу којима су: ITS регион рибозомалне ДНК (ITS), ген за АТФ-азу (*ATP*), ген за калмодулин (*CaM*), ген за хистон (*His*), *Alternaria* алерген ген *al* (*Alt a1*), ген за РНК полимеразу 2 (*RPB2*), ген за транслациони елонгациони фактор (*TEF* 1- α) и други (Lawrence et al., 2013; Hong et al., 2005; Woudenberg et al., 2015; Matić et al., 2020).

У Србији су врсте рода *Alternaria* описане као проузроковачи болести биљака из различитих фамилија. Међу домаћинима ових врста су јабука (Bulajić et al., 1996), стрна жита (Đisalov et al., 2015), ким, невен (Ristić et al., 2010; 2014) и купусњаче (Blagojević et al., 2020). Присутне су на семену мркве, першуна, пашканата, целера и коријандера (Bulajić et al., 2009; Микић и сар., 2021), камилице, жалфије, белог слеза и ехинацеје (Павловић и сар., 2012). Присуство гљива из рода *Alternaria* описано је на семену босиљка (Kişgeci et al., 2011), а врста *A. alternata* је утврђена као најчешће изолована гљива са семена босиљка (Starović et al., 2012). Jošić et al. (2012) у истраживању могућности примене биолошке контроле, наводе *A. tenuissima* као проузроковача болести босиљка, међутим подаци о идентификацији ове врсте недостају.

Програмом истраживања у оквиру ове дисертације предвиђено је да се утврди етиологија црне пегавости босиљка, односно да се проузроковач обољења идентификује и окарактерише. Етиологија обољења ће се разјаснити кроз изолацију гљива из биљака босиљка са симптомима црне пегавости и проверу патогености добијених изолата. Патогени изолати ће бити идентификовани и детаљно окарактерисани на основу морфолошких и молекуларних особина. Програмом истраживања ове дисертације биће обухваћено и испитивање утицаја болести, црне пегавости босиљка, на принос надземног дела биљке, садржај и квалитет старског уља босиљка.

2.2 Научни циљ истраживања

Црна пегавост босиљка је обољење које је описано у новије време у свету, где се као проузроковачи наводе врсте из рода *Alternaria*, и то најчешће врста *A. alternata*. У нашој земљи присуство врста рода *Alternaria* и врсте *A. alternata* описано је на семену босиљка, међутим нема података о болести коју проузрокују у току вегетације. Осим тога, детаљна морфолошка и молекуларна идентификација и карактеризација ових патогена босиљка до сада није спроведена у нашој земљи. Због тога су циљеви ове дисертације да се утврди етиологија црне пегавости босиљка у Србији и да се обави детаљна морфолошка и молекуларна карактеризација проузроковача. Такође, циљеви истраживања у оквиру дисертације су и да се испита утицај болести на принос надземног дела биљке, као и на садржај и квалитет етарског уља босиљка што, према доступној литератури, до сада није испитивано у свету.

3. Основне хипотезе од којих се полази у истраживању

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

- Црну пегавост босиљка у нашој земљи проузрокују гљиве из рода *Alternaria*;
- Детаљна морфолошка и молекуларна карактеризација омогућиће одређивање таксономске позиције проузроковача црне пегавости босиљка изолованих у Србији;
- Добијени изолати исте врсте испољавају морфолошку варијабилност;
- Добијени изолати исте врсте испољавају молекуларну варијабилност;
- Црна пегавост босиљка смањује принос надземног дела биљке (*Basilici herba*);
- Црна пегавост босиљка утиче на садржај и квалитет етарског уља из надземног дела биљке (*Basilici aetheroleum*);
- Спроведена испитивања допринеће утврђивању етиологије и значаја црне пегавости за производњу босиљка.

4. Методе које ће се применити у истраживањима

1. Прикупљање узорака

За реализацију предложеног програма, обавиће се сакупљање биљака босиљка сорте Genovese са симптомима црне пегавости. Заражене биљке ће се прикупљати више пута у току вегетације на локалитету Панчево, у колекцији Института за проучавање лековитог биља „др Јосиф Панчић“ Београд.

2. Изолација гљива и добијање чистих култура

Изолација гљива ће се обавити из корена, стабла, листа и семена симптоматичних биљака босиљка. Биљке ће бити опране, површински стерилисане 70% раствором етанола и осушене на стерилним папирним убрусима. Фрагмент на прелазу између здравог и зараженог ткива ће се пребацити на подлогу од кромпир декстрозног агара (КДА). Након пет дана инкубације фрагменти колонија ће се пресејавати на стерилне КДА подлоге ради добијања чистих култура које ће се користити у даљим испитивањима. Из чистих ће се добити моноспоријалне културе.

3. Провера патогености и реизолација

Провера патогености добијених изолата вршиће се вештачким инокулацијама листова, стабљика и корена, као и целих биљака босилка. Биљни делови за инокулацију биће претходно стерилисани. Инокулација стабљика обавиће се усправним побадањем исечака стабљике у културе изолата старе седам дана одгајене на КДА подлози. Инокулација листова обавиће се постављањем фрагмената колоније из културе изолата старе седам дана одгајене на КДА подлози на неповређен или претходно повређен лист. Инокулисани биљни делови ће бити инкубирани у влажним условима на собној температури. Контролне стабљике и листови биће инокулисани и инкубирани на исти начин, али уместо културе изолата користиће се стерилна КДА подлога. Инокулација корена обавиће се на стерилно одгајеним биљкама постављањем фрагмента колоније у зону корена, а одабраним изолатима инокулација ће се обавити прскањем целих биљака суспензијом спора. Суспензија спора из 10 дана старих култура ће се припремити у стерилној води уз додатак Tween 20. Контролне биљке биће инокулисане стерилном КДА подлогом, односно стерилном водом са додатком Tween 20. Сваким изолатом обавиће се инокулација по три биљке, односно по пет исечака стабљике и два листа. Инокулације ће се обавити у два понављања. Појава симптома ће се пратити након пет дана. Из биљних делова са симптомима извршиће се реизолација патогена на КДА подлогу.

4. Идентификација и молекуларна карактеризација

Идентификација добијених изолата ће започети прелиминарном идентификацијом заснованом на одликама колонија и микроскопским одликама изолата. Молекуларна идентификација обухватиће екстракцију нуклеинских киселина, умножавање одређених делова генома и анализу добијених секвенци.

Екстракција нуклеинских киселина. Дезоксирибонуклеинске киселине (ДНК) биће екстраховане из мицелије чистих култура старих седам дана одгајених на КДА подлози по СТАВ методи коју су описали Day and Shattock (1997).

Ланчана реакција полимеразе (PCR). Молекуларна идентификација и карактеризација добијених изолата обухватиће анализу више генских региона применом методе ланчане реакције полимеразе (PCR). Сви изолати биће идентификовани на основу ITS региона рибозомалне ДНК који ће бити амплификован универзалним прајмерима ITS1 и ITS4 (White et al., 1990) и дела гена за хистон (*His*) коришћењем прајмера H31a и H31b (Glass and Donaldson, 1995). Одабрани изолати биће додатно молекуларно окарактерисани анализом секвенци делова кодирајућих гена за АТФ-азу (*ATP*), калмодулин (*CAL*) и *Alternaria* алерген ген *al* (*Alt al*). Део гена за АТФ-азу биће амплификован коришћењем прајмера ATPDF1 и ATPDR1, део *CAL* гена применом прајмера CALDF1 и CALDR1 (Lawrence et al., 2013) и део *Alt al* гена применом прајмера Alt-for и Alt-rev (Hong et al., 2005) под одговарајућим PCR условима.

Визуелизација PCR продуката. Визуелизација PCR продуката обавиће се електрофорезом у агарозном гелу који ће бити обојен етидијумбромидом, посматран на UV трансилуминатору и фотографисан.

Секвенцирање и филогенетске анализе. PCR продукти биће пречишћени и секвенцирани. Секвенцирање ће се обавити у оба или једном смеру, са истим прајмерима који су коришћени у PCR реакцијама. Добијене секвенце биће обрађене у програму Pregar 4 у оквиру Staden пакета, а потом упоређене са секвенцама доступним у NCBI (National Center for Biotechnology and Information) бази података коришћењем BLAST анализе

(Basic Local Alignment Search Tool). За међусобно поређење добијених секвенци изолата, проучавање еволутивних односа и реконструкцију филогенетског стабла користиће се различите методе у оквиру програмског пакета MEGA 6 (Tamura et al., 2013).

5. Морфолошка карактеризација

Испитивање морфолошких особина обухватиће посматрање макроскопских и микроскопских одлика гљива. Макроскопске одлике (изглед, боја, обод, наличје колоније) и брзина пораста колоније биће посматране на хранљивим подлогама: КДА (кромпир декстрозни агар) и V8 подлога. Културе ће бити инкубирани у Петри кутијама које нису обмотане парафилмом, у условима смене дана и ноћи, при температури $\sim 22^{\circ}\text{C}$ (Simmons, 2007). Брзина пораста колоније биће израчуната свакодневним мерењем пречника колоније и изражена као просечни дневни пораст. За сваки изабрани изолат испитивање брзине пораста колоније обавиће се у три понављања. Микроскопске одлике (величина и изглед конидија, број попречних и уздужних септи) добијених изолата ће се проучавати на КДА или V8 подлози након инкубације при описаним условима (Simmons, 2007).

6. Производња биљака и одређивање утицаја болести на принос надземног дела босиљка

Производња сејанаца босиљка сорте Genovese, биће започета у лабораторији Института за проучавање лековитог биља „др Јосиф Панчић“ Београд. Комерцијално семе босиљка биће посејано у стиропорске контејнере са 40 ћелија (запремина ћелије 100 ml), претходно напуњених супстратном смешом црног и белог тресета (Gramoseed) следећих карактеристика: структуре 0-5 mm, NPK 18:10:20+Mg+минерални елементи (0,8 kg/m³), RADIGEN® - Jost GmbH (микроелементи са постепеним ослобађањем-100 g/m³), хидрогел (средство за влажење 1 kg/m³). Након сетве, контејнери ће бити постављени у шатор за узгој биљака (Grow box), при следећим условима гајења: температура ваздуха око 20°C, релативна влажност ваздуха 55±5%, вештачко осветљење обезбеђено флуоресцентним цевима са 12-часовним фотопериодом и температура супстрата 23±2°C. Температура и релативна влага ваздуха биће праћене путем дата логера (LogTag НАХО-8), док ће температура супстрата бити мерена дигиталним термометром (Testo 110). Биљке ће бити гајене у шатору за узгој биљака до појаве првих правих листова након чега ће бити пресађене у саксије запремине 1,5 l, пречника 12 cm, напуњене истом супстратном смешом која је коришћена приликом сетве и даље гајене у стакленику.

Вештачка инокулација ће се обавити прскањем биљака суспензијом спора одабраног изолата *Alternaria* sp. Суспензија спора у стерилној води са додатком Tween 20, ће се припремити из култура старих 10 дана одгајених на КДА подлози. Инокулисане биљке ће се држати у влажним условима 24-48 h, а затим инкубирати у условима стакленика до појаве симптома и развоја болести. Контролне биљке ће бити третиране на исти начин, али уместо суспензије спора користиће се стерилна вода са додатком Tween 20. Морфометријске карактеристике биљака (дужина и ширина листа, висина стабљике, број грана, укупни принос свеже и суве хербе) ће се одредити на основу мерења 30 биљака, у три понављања, како инокулисаних, тако и здравих. Биљке ће бити анализиране у фази цветања, односно након појаве симптома и развоја болести на зараженим биљкама. Жетва биљака обавиће се након испитивања морфометријских карактеристика.

7. Одређивање утицаја болести на садржај и квалитет етарског уља из надземног дела босиљка

Садржај етарског уља у надземном делу здравих и заражених биљака биће утврђиван методом хидродестилације према поступку 1, Југословенске фармакопеје (1984). Укратко, 20 g суве биљне дроге ће бити преливено са 400 ml воде, загрејано до кључања и дестиловано 2,5 h, након чега ће се очитати запремина етарског уља (ml). Проценат уља у 100 g биљне дроге ће се израчунати према следећој формули: $C = (b:a) \times 100$ при чему су: a – одмерена количина биљне дроге (g); b – количина добијеног етарског уља (ml) и C – садржај етарског уља у биљној дроги (%).

Поступак добијања етарског уља ради његове хемијске карактеризације је исти с тим што се након завршене дестилације, добијено уље третира анхидрованим натријум-сулфатом (Na_2SO_4), и филтрира. Узорак уља ће се чувати при 4°C и анализирати применом комбиноване методе гасне хроматографије и масене спектрометрије (GC/MS). За поменућу анализу, 20 μl узорка уља ће бити растворено у 1,5 ml хексана.

Хемијски састав етарског уља ће бити анализиран GC/MS техником, на Shimadzu GCMSKP2010 ултра масеном спектрометру опремљеном пламено-јонизујућим детектором, и спојеним са гасним хроматографом GC2010. За сепарацију ће бити коришћена капиларна колона InertCap5 (60,0 m x 0,25 mm x 0,25 mm). За носећи гас ће се користити хелијум (He), у сплит режиму 1:5, при линеарној брзини од 35,2 cm/s. Почетна температура пећи биће 60°C у трајању од 4 min, па ће се у трајању од 10 min повећавати до 280 °C брзином од 4°C / min. Температуре ињектора биће 250°C, детектора 300°C, а извора јона 200°C.

Идентификација компоненти у узорцима уља босиљка биће вршена упоређивањем масених спектра и ретенционих индекса (RIE) са онима добијеним из аутентичних узорака и/или наведеним у NIST/Wiley библиотекама масених спектра (RIL), користећи различите типове претраге (PBM/NIST/AMDIS) и доступне литературне податке (Adams, 2009).

5. Очекивани резултати и научни допринос

Истраживања у оквиру предложене докторске дисертације по обиму и теми нису раније обављена у нашој земљи, а предмет су све већег броја светских публикација. Очекује се да ће ова истраживања расветлити етиологију црне пегавости босиљка у нашој земљи и да ће дати допринос у познавању ове болести босиљка у свету. Очекује се да је црна пегавост босиљка проузрокована гљивама из рода *Alternaria* и резултати морфолошких и молекуларних испитивања ће омогућити одређивање тачне таксономске позиције добијених изолата из Србије. Тиме ће се дати допринос и у проучавањима ових све значајнијих патогена у свету. Резултати истраживања у оквиру ове дисертације ће показати какав је утицај црне пегавости босиљка на принос надземног дела биљке, као и садржај и квалитет етарског уља, што су прва истраживања тог типа у свету, а омогућиће и сагледавање значаја врста из рода *Alternaria* за производњу хербе и етарског уља босиљка у Србији.

6. Закључак

На основу анализе поднете пријаве, одржане јавне одбране научне заснованости теме, предложеног програма и очекиваних резултата докторске дисертације Саре Микић, мастер инж., под насловом: „**Црна пегавост босиљка – карактеризација проузроковача и утицај на принос надземног дела, садржај и квалитет етарског уља**“, Комисија сматра 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 ових гљива, као и компетентност и иновативност у решавању задатака које поставља дисертација. Комисија је уверена да ће у потпуности реализовати предложени програм и добити поуздане резултате од значаја за науку и праксу. Истраживања у оквиру ове дисертације ће кроз идентификацију и детаљну молекуларну и морфолошку карактеризацију проузроковача расветлити етиологију црне пегавости босиљка у нашој земљи и дати допринос у познавању ове болести босиљка у свету. Очекује се да је црна пегавост босиљка проузрокована гљивама из рода *Alternaria* и резултати истраживања у оквиру ове дисертације омогућиће одређивање тачне таксономске позиције изолата из Србије, и тиме дати и допринос у проучавањима ових све значајнијих патогена у свету. Резултати истраживања у оквиру дисертације ће указати на утицај црне пегавости босиљка на принос надземног дела биљке, као и садржај и квалитет етарског уља, о чему до сада нема података, а омогућиће и сагледавање значаја врста из рода *Alternaria* за производњу хербе и етарског уља босиљка у Србији.

На основу свега изнетог, Комисија у саставу др Ивана Вицо, др Наташа Дудук и др Татјана Марковић, позитивно оцењује поднету пријаву и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати поднету пријаву и Сари Микић, мастер инж., одобри израду докторске дисертације под насловом: „**Црна пегавост босиљка – карактеризација проузроковача и утицај на принос надземног дела, садржај и квалитет етарског уља**“.

Комисија за ментора ове докторске дисертације предлаже др Ивану Вицо, редовног професора, Универзитета у Београду-Пољопривредни факултет.

7. **Име и референце предложеног ментора**

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

Звање: **редовни професор**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Duduk B., Duduk N., **Vico** I., Stepanović J., Marković T., Rekanović E., Kube M., Radanović D. (2019): Chamomile floricolous downy mildew caused by *Peronospora radii*. *Phytopathology* 109: 1900-1907.
2. Vojvodić, M., Tanović, B., Mitrović, P., **Vico**, I. and Bulajić, A., (2020). *Waitea circinata* var. *zeae* causing root rot of cabbage and oilseed rape. *Plant Disease*, 105: 787-796.
3. Žebeljan A., **Vico** I., Duduk N., Žiberna B., Urbanek Krajnc A. (2021): Profiling changes in primary metabolites and antioxidants during apple fruit decay caused by *Penicillium crustosum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 113: 101586.

4. Žebeljan A, Duduk N, Vučković N, Jurick WM II, **Vico I.** (2021): Incidence, Speciation, and Morpho-Genetic Diversity of *Penicillium* spp. Causing Blue Mold of Stored Pome Fruits in Serbia. *Journal of Fungi*, 7: 1019.
5. Vučković, N., **Vico**, I., Duduk, B., and Duduk, N. (2022). Diversity of Botryosphaeriaceae and *Diaporthe* species associated with postharvest apple fruit decay in Serbia. *Phytopathology*, 112: 929-943.

Београд-Земун
Дана 01.06.2022. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

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

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

др Татјана Марковић, научни саветник
Институт за проучавање лековитог биља
„др Јосиф Панчић“
(ужа научна дисциплина: Лековито биље)

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 Саре Микић

Рад у националном часопису међународног значаја (М24)

Микић, С., Вицо, И., Дудук, Н., Марковић, Т. (2021): Могућност дезинфекције семена коријандера етарским уљем питоме нане. *Journal of Agricultural Sciences*, 66: 39-52.

Саопштење са међународног скупа штампано у целини (М33)

Филиповић, В., **Микић, С.**, Угреновић, В., Марковић, Т., Пријић, Ж., Мрђан, С., Горданић, С. (2021): The influence of some bio-products on germination and protection of *Chatomilla recutita* (L.) Rauch seeds. Book of Proceedings 12th International Agriculture Symposium "AgroSym 2021", Jahorina, 760-766.

Горданић, С., Симић, А., Радановић, Д., Марковић, Т., Мрђан, С., Вуковић, С., Филиповић, В., **Микић, С.**, Моравчевић, Ђ. (2021): Morphological definition populations of *Allium ursinum* L. from the western part of the Republic of Serbia. Book of Proceedings 10th International Symposium "AgroRes 2021", Trebinje, 92.

Мрђан С., Црнобарац Ј., Радановић Д., Марковић Т., Ђурић С., Филиповић В., Драгумило А., Горданић С., **Микић С.**, Пријић Ж. (2021): Influence of mycorrhizal fungi on *Satureja montana* L. grown in chernozem and arenosol. Book of Abstracts 3rd International and 15th National Congress of Serbian Society of Soil Science and Faculty of Agriculture, Sokobanja, 57.

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (М34)

Горданић С., Радановић Д., **Микић С.**, Мрђан С., Пријић Ж., Марковић Т., Моравчевић Ђ. (2021): Emergence and initial growth of *Allium ursinum* in different soil types. Book of Abstracts 3rd International and 15th National Congress of Serbian Society of Soil Science and Faculty of Agriculture, Sokobanja, 56.

Горданић С., Радановић Д., Батинић П., **Микић С.**, Мрђан С., Филиповић В., Пријић Ж., Марковић Т. (2021): Influence of organic biostimulators on seed maturation of medicinal and spice plant species *Coriandrum sativum* L. Book of Abstracts Unifood conference, Belgrade, 184.

Филиповић, В., **Микић, С.**, Угреновић, В., Марковић, Т., Поповић, В., Мрђан, С., Горданић, С. (2021): The influence of biofungicides on germination and protection of the seeds *Foeniculum vulgare* L. Book of Abstracts 10th International Symposium "AgroRes 2021", Trebinje, 41.

Мрђан, С., Радановић, Д., Црнобарац, Ј., Марковић, Т., Драгумило, А., Филиповић, В., Горданић, С., **Микић, С.**, Пријић, Ж. (2021): Effects of IBA stimulators on propagation of *Lavandula angustifolia* Mill. By softwood cuttings. Book of Abstracts 12th International Agriculture Symposium "AgroSym 2021", Jahorina, 245.

Горданић, С., Моравчевић, Ђ., Радановић, Т., Марковић, Т., Костић, Ж. А., Вуковић, С., Мрђан, С., Килибарда, С., Филиповић, В., **Микић, С.**, Пријић, Ж. (2021): Influence of growth bioregulators on seed germination of some medicinal and aromatic plants. Book of Abstracts 12th International Agriculture Symposium "AgroSym 2021", Jahorina, 248.

Пријић, Ж., Марковић, Т., Пањковић, Б., Радановић, Д., **Микић, С.**, Мрђан, С., Филиповић, В. (2021): Genetic resources of Serbian native herbaceous Peonies. Book of Abstracts 12th International Agriculture Symposium “AgroSym 2021”, Jahorina, 255.

Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу (М64)

Микић, С., Горданић, С., Мрђан, С., Драгумило, А. (2021): Превентивно деловање етарских уља на појаву *Alternaria* spp. на семену коријандера. Зборник резимеа радова XVI саветовања о заштити биља, Златибор, 51-52.

Драгумило, А., **Микић, С.**, Марковић, Т., Горданић, С., Мрђан, С., Филиповић, В., Врбничанин, С., Божић, Д. (2021): Квалитативна и квантитативна анализа корола у усеви лековитог биља. Зборник резимеа радова XI конгрес о коровима и саветовање о хербицидима и регулаторима раста, Палић, 63-64.

Драгумило, А., Марковић, Т., Мрђан, С., **Микић, С.**, Радановић, Д., Врбничанин, С., Божић, Д. (2021): Коровска флора у конвенционално гајеном лековитом биљу на подручју јужног Баната. Зборник резимеа радова XI конгрес о коровима и саветовање о хербицидима и регулаторима раста, Палић, 62-63.

Мрђан, С., Црнобарац, Ј., Марковић, Т., Драгумило, А., **Микић, С.**, Горданић, С., Радановић, Д. (2021): Могућност примене ИБА стимулатора и ИАА биостимулатора у оживљавању резница тимијана (*Thymus vulgaris* L.). Зборник резимеа радова XI конгрес о коровима и саветовање о хербицидима и регулаторима раста, Палић, 84.

Прилог 2. Списак литературе која ће се користити

- Adams, R. P. (2009): Identification of essential oil compounds by gas chromatography and mass spectrometry (fourth ed.). Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, USA.
- Blagojević, J. D., Vukojević, J. B., Ivanović, Ž. S. (2020): Occurrence and characterization of *Alternaria* species associated with leaf spot disease in rapeseed in Serbia. *Plant Pathology*, 69 (5): 883-900.
- Bulajić, A., Filajdić, N., Babović, M., Sutton, T.B. (1996): First report of *Alternaria mali* on apples in Yugoslavia. *Plant Disease*, 80(6), pp.709-709.
- Bulajić, A., Đekić, I., Lakić, N., Krstić, B. (2009): The presence of *Alternaria* spp. on the seed of *Apiaceae* plants and their influence on seed emergence. *Archives of Biological Sciences*, 61 (4): 871-881.
- Day, J. P., Shattock, R. C. (1997): Aggressiveness and other factors relating to displacement of populations of *Phytophthora infestans* in England and Wales. *European Journal of Plant Pathology*, 103: 379-391.
- DeMers, M. (2022): *Alternaria alternata* as endophyte and pathogen. *Microbiology*, 168: 001153.
- Disalov, J., Bodroža-Solarov, M., Bagi, F., Petrović, K., Čulafić, J., Bočarov-Stančić, A., Berlek, T. (2015): First report of *Alternaria tenuissima* and *Alternaria infectoria* on organic spelt wheat in Serbia. *Plant Disease*, 99: 1647.
- Farr, D. F., Rossman, A. Y. (2022): Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved May 11, 2022, from <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases>
- Garibaldi, A., Gilardi, G., Bertoldo, C., Gullino, M. L. (2011): First report of leaf spot of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) caused by *Alternaria alternata* in Italy. *Journal of Plant Pathology*, 93: 63-89.
- Gilardi, G., Gullino, M. L., Garibaldi, A. (2013): Occurrence of *Alternaria* spp. in the seeds of basil and its pathogenicity. *Journal of Plant Pathology*, 95: 41-47.
- Glass, N. L., Donaldson, G. C. (1995): Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 1323–1330.
- Hong, S. G., Cramer, R. A., Lawrence, C. B., Pryor, B. M. (2005): *Alt a1* allergen homologs from *Alternaria* and related taxa: analysis of phylogenetic content and secondary structure. *Fungal Genetics and Biology*, 42: 119–129.
- Jošić, D., Pavlović, S., Starović, M., Stojanović, S., Stanojković-Sebić, A., Pivić, R. (2012): Biocontrol of *Alternaria tenuissima* originated from *Ocimum basilicum* L. using indigenous *Pseudomonas* spp. strains. *Proceedings of the 7th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries*, Subotica, Serbia, 195-200.
- Југословенска фармакопеја Ph.Yug. (1984): IV издање, Савезни завод за здравствену заштиту, Београд, 126–127.
- Кишгеци, Ј., Јелачић, С., Беатовић, Д. (2009): Лековито, ароматично и зачинско биље. Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет. Београд,
- Kišgeci, J., Jelačić, S., Beatović, D., Lević, J., Moravčević, Đ., Zarić, V., Gojković, Lj. (2011): Evaluation of basil seed (*Ocimum basilicum* L.). *Acta fytotechnica et zootechnica*, 2: 41-44.
- Lawrence, D. P., Gannibal, P. B., Peever, T. L., Pryor, B. M. (2013): The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. *Mycologia*, 105: 530-546.

- Lawrence, D. P., Rotondo, F., Gannibal, P. B. (2016): Biodiversity and taxonomy of the pleomorphic genus *Alternaria*. *Mycological Progress*, 15: 3.
- Matić, S., Tabone, G., Garibaldi, A., Gullino, M. L. (2020): *Alternaria* leaf spot caused by *Alternaria* Species: An emerging problem on ornamental plants in Italy. *Plant Disease*, 104: 2275-2287.
- McLeod, A., Coertze, S. and Mostert, L. (2006): First report of a *Peronospora* species on sweet basil in South Africa. *Plant Disease*, 90:1115-1115.
- Микић, С., Вицо, И., Дудук, Н., Марковић, Т. (2021): Морућност дезинфекције семена коријандера старским уљем питоме нане. *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)*, 66: 39-52.
- Павловић, С., Стојановић, С., Кузмановић, С., Старовић, М., Живковић, С., Доловац, Н. (2012): Етиологија обољења важнијих плантажно гајених лековитих биљака у Србији. *Заштита биља*, 63: 224-241.
- Pinto, V. E. F., Patriarca, A. (2017): *Alternaria* species and their associated mycotoxins. In: Moretti, A., Susca, A. (eds) *Mycotoxigenic fungi. Methods in molecular biology*: 1542. Humana Press, New York, NY.
- Ristić, D., Stanković, I., Vučurović, A., Lekić, B., Nikolić, D., Adamović, D., Miličević, T., Krstić, B., Bulajić, A. (2010): Fungi of the genera *Alternaria* as pathogens of pot marigold (*Calendula officinalis* L.). X Savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor.
- Ristić, D., Aćimović, M., Trkulja, N. (2014): Morphological and molecular identification of *Alternaria alternata*: Caraway fruits pathogen in Serbia. *Zaštita bilja*, 65: 163-169.
- Starović, M., Pavlović, S., Stojanović, S., Stević, T., Kuzmanović, S., Popović, T., Jošić, D. (2012): Mycopopulation of basil seeds. *Proceedings of the 7th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries*, Subotica, Serbia, 303-308.
- Степановић, Б., Радановић, Д. (2011): Технологија гајења лековитог и ароматичног биља у Србији. Институт за проучавање лековитог биља „др Јосиф Панчић“, Београд, 70-73.
- Siciliano, I., Ortega, S.F., Gilardi, G., Bosio, P., Garibaldi, A. and Gullino, M.L., (2018): Molecular phylogeny and characterization of secondary metabolite profile of plant pathogenic *Alternaria* species isolated from basil. *Food Microbiology*, 73, pp.264-274.
- Simmons, E.G. (2007): *Alternaria*. An Identification Manual. 1st Ed. CBS Biodiversity Series. Utrecht, The Netherlands.
- Taba, S., Takara, A., Nasu, K., Miyahira, N., Takushi, T., Moromizato, Z. (2009): *Alternaria* leaf spot of basil caused by *Alternaria alternata* in Japan. *The Journal of General Plant Pathology*, 75: 160-162.
- 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.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *Academic Press, INC*.
- Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M., Crous, P. W. (2013): *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology*, 75: 171-212.
- Woudenberg, J. H. C., Seidl, M. F., Groenewald, J. Z., de Vries, M., Stielow, J. B., Thomma, B. P. H. J., Crous, P. W. (2015): *Alternaria* section *Alternaria*: Species, formae speciales or pathotypes. *Studies in Mycology*, 82: 1-21.