

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ		
1. Датум и орган који је именовao комисију: 26. 04. 2023. године Наставно-научно веће Пољопривредног факултета у Новом Саду		
2. Састав комисије у складу са <i>Правилима докторских студија Универзитета у Новом Саду</i> :		
1.	др Драгана Будаков презиме и име	ванредни професор звање
	Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду установа у којој је запослен-а	Фитопатологија, 24.09.2020. ужа научна област и датум избора председник функција у комисији
2.	др Мила Граховац презиме и име	ванредни професор звање
	Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду установа у којој је запослен-а	Фитопатологија, 26.12.2019. ужа научна област и датум избора ментор функција у комисији
3.	др Јелица Гвоздановић – Варга презиме и име	научни саветник звање
	Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад установа у којој је запослен-а	Генетика и оплемењивање, 30.11.2016. ужа научна област и датум избора члан функција у комисији
4.	др Маја Игњатов презиме и име	научни саветник звање
	Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад установа у којој је запослен-а	Фитопатологија, 22.03.2023. ужа научна област и датум избора члан функција у комисији
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ		
1. Име, име једног родитеља, презиме: Слободан (Александар) Влајић		
2. Датум рођења, општина, држава: 26.09.1989. год., Нови Сад, Србија		

3. Назив факултета, назив претходно завршеног нивоа студија и стечени стручни/академски назив:

Пољопривредни факултет, смер Фитомедицина, модул Фитопатологија, мастер инжењер пољопривреде

4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија:

2013. године, Агрономија

III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

„Екологија и сузбијање *Xanthomonas campestris pv. campestris*“

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са знаком броја страница, поглавља, слика, схема, графикона и сл.

Докторска дисертација садржи Кључну документацијску информацију са изводом на српском и енглеском језику. Након тога, проблематика дисертације је изложена на 163 стране А4 формата са 23 слике, 29 табела и 5 графикона систематизованих у 11 целина:

1. Увод (стр. 1-2)
2. Преглед литературе (стр. 3-23)
3. Циљеви истраживања (стр. 24)
4. Радна хипотеза (стр. 25)
5. Еколошки услови (стр. 26-29)
6. Материјал и методе рада (стр. 30-58)
7. Резултати (стр. 59-104)
8. Дискусија (стр. 105-115)
9. Закључак (стр. 116-117)
10. Литература (стр. 118-147)
11. Прилози (148-163)

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Увод. У уводном делу кандидат даје кратак преглед значаја врста породице *Brassicaceae* са освртом на проузроковаче обољења а посебно бактерију *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Хсс) која може да нанесе значајне губитке током производње и складиштења главица.

Преглед литературе. У овом поглављу кандидат даје систематичан преглед актуелне и релевантне литературе која се односи на бактерију Хсс и проблематику истраживања у оквиру ове докторске дисертације. Описана је историја појаве и распрострањеност бактерије, симптоматологија, морфолошке и одгајивачке одлике, епидемиологија, конвенционалне, серолошке и молекуларне методе идентификације као и основни концепт сузбијања обољења бактериозне природе применом различитих једињења. Преглед литературе је сврстан и приказан кроз више поглавља. У прегледу је приказана најзначајнија литература из истраживане области која је омогућила кандидату да реализује истраживања, адекватно тумачи и интерпретира резултате, дискутује и изведе одговарајуће закључке. На основу прегледа литературе, комисија сматра да је кандидат детаљно упознат са релевантним радови из области истраживања.

Циљ и сврха истраживања. Циљ и сврха истраживања су јасно дефинисани, правилно конципирани и формулисани.

Радна хипотеза. Хипотеза је правилно постављена и њено тестирање даје могућност реализације постављених циљева истраживања.

Еколошки услови. У поменутом поглављу дат је приказ еколошких услова кроз услове земљишта и температуре током извођења експерименталног дела дисертације у пољским условима.

Материјал и методе рада. У шестом поглављу приказани су материјал и метод рада, који су неопходни за реализацију циљева истраживања. Ово поглавље састоји се од 15 потпоглавља, у оквиру којих је описано: узорковање биљног материјала, изолација патогена, примењене методе за испитивање морфолошких, биохемијско – физиолошких и серолошких одлика, као и методе молекуларне идентификације. Такође је описана метода за утврђивање осетљивости патогена према бактериофагима и бакарним препаратима, као и детаљан опис огледа за утврђивање ефикасности примењених бактерицида кроз интензитет заразе у пољским условима.

Резултати. Резултати рада прате план истраживања наведен у *Пријави теме*. Изложени су у оквиру седмог поглавља кроз 16 потпоглавља. Резултати су представљени текстуално и табеларно (18 табела) уз графички приказ са 11 графикона. У оквиру поглавља *Сакупљање узорака* представљени су подаци о локалитетима на којима су сакупљени узорци купусњача и описани симптоми на представницима поменуте фамилије. Након представљања успешности изолације, докторанд наводи да је за проучавање одабрано 82 изолата пореклом из листова: купуса, карфиола, кеља, броколија и уљане репице; 20 изолата пореклом са семена и 13 изолата пореклом из земљишта. Посебна пажња у резултатима је поклоњена поглављу *Периодична изолација Хсс у земљишту*, у коме је проучена флукуација бактерије у зависности од периода године. Поред изолације бактерије, упоредно је вршена изолација бактериофага, који су укључени у истраживање. Провером патогености изолата на биљци домаћину и хиперсензитивне реакције на дувану и мушкатли, потврђено је да сви изолати проузрокују карактеристичне симптоме на биљци домаћину и хиперсензитивну реакцију. У наставку се наводе резултати проучавања одгајивачких и морфолошких одлика као и биохемијско – физиолошке одлике. Применом директне имуноензимске методе на плочи (DAS - ELISA), проучене су серолошке одлике изолата. Молекуларним методама применом сета прајмера DLH 120/DLH 125 (619 bp), као и Zup 2309/Zup 2310 (370 bp), амплификовани су фрагменти нуклеинских киселина величине 370 и 619 bp код свих испитиваних изолата и референтног соја NCPPB 1144.

Поређењем секвенци 16S rRNA гена проучаваних изолата, са секвенцама које се налазе у NCBI бази, утврђен је висок степен идентичности (100%) са сојем пореклом из Француске (PDD-33b-3), сојем из Енглеске (NCPPB1144) и сојем непознатог порекла (XJGY222). Испитивањем осетљивости проучаваних сојева утврђено је да концентрација од 300 ppm код свих испитиваних облика бакра (сулфатни, хидроксилни, оксихлоридни) делује инхибиторно на развој. Насупрот томе, концентрација од 100 ppm омогућила је развој свих испитиваних изолата. Проучавањем специфичности бактериофага утврђена је липолитичка активност према изолатима *Xcc*. У поглављу *Утицај температуре на развој болести in planta*, утврђене су температуре које погодују развоју симптома. Појава симптома се бележи при температури од 16°C, док је најслабија појава симптома забележена при температури од 36°C. Испитивањем различитих облика бакра у контроли *Xcc*, утврђен је различит степен интензитета заразе у примењеним третманима. Најслабији интензитет заразе бележен је у третману где је примењен бакар – хидроксид и то виша концентрација, у односу на бакар – сулфат и оксихлорид. Такође комбинација бакра са дитиокарбаматима и фосфанатима, смањила је интензитет заразе на купусу у условима вештачке инокулације али и природне заразе. Резултати истраживања утицаја примењених бактерицида на масу главице, указују да комбинације препарата бакар – хидроксид + фосетил – алуминијум и бакар – хидроксид + манкозеп имају позитивно дејство на масу главице у поређењу са другим испитиваним бактерицидима. Резултати су адекватно документовани фотографијама, табелама и графиконима.

Дискусија. Кандидат је интерпретирао добијене експерименталне резултате и дао њихову критичку анализу. У оквиру овог дела кандидат разматра добијене резултате појаве и распрострањености бактерије у односу на локалитете, као и успешност изолација из листа, семена и земљишта. Посебно дискутује о добијеним подацима периодичне изолације из земљишта. Резултате морфолошких, биохемијско – физиолошких, серолошких и молекуларних карактеристика бактерије пореди са најсавременијим доступним литературним подацима. Нарочито се истичу резултати осетљивости бактерије према различитим облицима бакарних препарата у циљу утврђивања појава могуће резистентности али и побољшања стратегије у контроли патогена. Као савремени аспект изучава се осетљивост бактерије на изоловане бактериофаге, који се могу користити у циљу идентификације али и као вид биолошке контроле. На крају дискусије пореде се резултати ефикасности одабраних бактерицида самостално, али и у комбинацији са различитим другим једињењима. Ефекат поменутих третмана прати се кроз интензитет инфекције, као и кроз утицај на масу главице као битан морфолошки параметар.

Литература. Обухвата 337 литературне јединице, које садрже библиографске податке везане за *Xcc*. Избор литературе је извршен на основу актуелности и значаја за област истраживања којом се бави ова докторска дисертација. Највећи број литературних навода подразумева радове објављене у часописима међународног значаја.

Прилог. У овом поглављу описане су рецептуре за коришћене подлоге, списак објављених 16S rRNA секвенци *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, и дате су нумеричке вредности статистичке обраде података.

VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ:

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у складу са *Правилма докторских студија Универзитета у Новом Саду* који је повезан са садржајем докторске дисертације. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду уредника часописа о томе.

Рад у међународном часопису (M23)

1. **Vlajić S.**, Iličić R., Gvozdanović – Varga J., Maširević S., Kozoderović G., Ignjatov M., Jošić D. (2022): Study of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* isolates originating from soil and *Brassica* spp. seeds. Emirates Journal of Food and Agriculture, 35(10): 827-835. doi: 10.9755/ejfa.2022.v34.i10.2923

Саопштење са међународног скупа штампано у целини (M33)

2. **Vlajić S.**, Iličić R., Maširević M., Gvozdanović – Varga J., Đukuć D., Bugarski D., Đurović V. (2019): The sensitivity of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* against bacteriophages isolated from soil. 1st International Symposium: Modern Trends in Agricultural Production and Environmental Protection, July 02–05th, Tivat, Montenegro, 223–229.

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M34)

1. **Vlajić S.**, Maširević S., Todorčić S., Škorić D., Iličić R. (2017): Susceptibility of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* isolates *in vitro* conditions and in the field trial. 2nd International Balkan Agriculture Congress, Tekirdag (Turkey), May 16–18, Book of Abstract, 66.
2. **Vlajić S.**, Maširević S., Feldeždi M., Vujičić J., Iličić R. (2016): Possibility of *Bacillus subtilis* Č 13 application in cabbage protection from *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. 3rd International symposium on biological control of plant bacterial diseases, Belgrade, 11–13 April, Book of Abstract (Elektronski izvor).

Саопштење са скупа националног значаја штампано у целини (M63)

1. **Vlajić S.**, Gvozdanović - Varga J., Maširević S., Iličić R., Božić V., Ignjatov M., Milošević D. (2019): Utvrđivanje prisustva bakterije *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* na semenu kupusa. XXIV Savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Čačak, 15–16. Marta. Zbornik radova, 421–426.
2. **Vlajić S.**, Maširević S., Barać R., Iličić R., Gvozdanović – Varga J., Božić V. (2017): Bolesti kupusa 2016. godine. XXII Savetovanje o biotehnologiji, Čačak, 10–11 Mart, Zbornik radova I, 309–314.
3. **Vlajić S.**, Maširević S., Iličić R., Gvozdanović-Varga J., Červenski J., Božić V. (2016): Efikasnost nekih preparata u kontroli crne truleži kupusnjača (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*). XXI Savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Čačak, 11–12 mart 2016. god., Zbornik radova, 21 (23): 411–416.

Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу (M64)

1. **Vlajić S.**, Gvozdanović-Varga J., Maširević S., Đurić S., Kozoderović G., Ignjatov M., Jošić D. (2018): Identifikacija i karakterizacija *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* izolovanih iz zemljišta. VI Simpozijum Sekcije za oplemenjivanje organizama Društva genetičara Srbije i IX Simpozijum Društva selekcionera i semenara Republike Srbije, Vrnjačka Banja 7–11.05.2018., Zbornik Apstrakata, 147–148.

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА:

На основу резултата вишегодишњих истраживања, донети су следећи закључци:

1. Проузроковач судовне бактериозе купусњача често се појављује на производним парцелама у агроколошким условима Републике Србије. Патоген се појављује сваке године у већем или мањем интензитету. На местима традиционалног гајења купуса, гајењем осетљивог генотипа може се очекивати интензитет заразе преко 75%.
2. Изолацијом из листова, са семена и из земљишта, сакупљено је 128 изолата, који су на основу резултата провере патогености, одгајивачких и биохемијско – физиолошких одлика прелиминарно идентификовани као врста *X. c. pv. campestris*.
3. Присуство бактерије на натуралном и сертификованом семену купусњача, указује на значај семена у епидемиологији *Xcc* у нашим агоеколошким условима.
4. Периодичним изолацијама *Xcc* из земљишта утврђено је да бактерија има способност одржавања у земљишту са израженим флукуацијама њеног присуства у зависности од температуре која се појављује као ограничавајући фактор и утиче на смањење популације.
5. Применом DAS-ELISA теста потврђено је да проучавани изолати *Xcc* присутни на купусњачама у нашој земљи поседују заједничке антигенске карактеристике као и контролни, референтни сој ове бактерије NCPPB 1144.
6. Применом молекуларних метода mPCR-a, изведених сетом прајмера DLH 120/DLH 125 (619 bp), као и Zup 2309/Zup 2310 (370 bp), код свих проучаваних изолата и реизолата, као и контролног референтног соја NCPPB 1144, амплификовани су фрагменти нуклеинских киселина величине 370 i 619 bp, што указује на припадност врсти *X. c. pv. campestris*
7. Утврђивањем и проучавањем секвенци 16S rRNK гена, и њиховим поређењем са секвенцама NCBI базе, утврђен је висок степен сличности (100%) са другим сојевима *Xcc* пореклом са других географских простора.
8. Инхибиторна концентрација свих испитиваних облика бакара (сулфатни, хлоридни, оксихлоридни) за популацију *Xcc* присутну на купусњачама у Србији износи 300 ppm. У погледу осетљивости према стрептомицин - сулфату, при концентрацијама од 25 i 50 ppm не долази до развоја изолата *Xcc*.
9. Присуство бактериофага потврђено је изолацијом из земљишта у непосредној близини заражених биљака. Испитивани изолати бактериофага показали су липолитичку активност само према изолатима *Xcc*, док према контролним сојевима KFB 29 (*X. vesicatoria*) i KBNS 94 (*P. s. pv. syringae*) активност није забележена.
10. На основу резултата AUDPC вредности утврђена је најповољнија температура за развој симптома *Xcc* при 28°C, а симптоми постају јасно видљиви у температурном интервалу 24 - 32°C, док температуре од 16 и 36°C доводе до слабог развоја патогена и слабо испољавање симптома.
11. Испитивањем ефикасности бактерицида уз вештачку инокулацију са *Xcc*, најмањи интензитет заразе је забележен у комбинацијама бакар – хидроксид 0,5% + фосетил – Al 0,2% и бакар – хидроксид 0,5% + манкозоб 0,25%. Исти резултати су добијени и у условима природне инфекције. Комбинација бакарних препарата са манкозобом и фосетил – Al, утицала је на повећање ефикасност. Примена комбинација поменутих препарата успорава развој резистентности на бакарне препарате.
12. Наведени подаци добијени у истраживању, указују на позитиван ефекат препарата са највишом ефикасности на просечну масу главице. Највећа просечна маса главице од 1,94 kg остварена је у 2014. години у третману са бакар – хидроксидом 0,5% + фосетил - Al 0,2%. У 2015 и 2016. години у третману са бакар – хидроксидом 0,5% + манкозоб 0,25% утврђене су највеће просечне масе главица од 1,60 kg, односно 1,54 kg.

<p>VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА:</p> <p>Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.</p> <p>Кандидат је резултате прегледно, јасно и систематизовано приказао и анализирао. Резултати су представљени у виду слика, табела, графикана. Резултати су адекватно дискутовани са научног аспекта, као и са аспекта практичне примене ефикасних бактерицида у контроли Хсс на купусу, улоге семена и земљишта у епидемиологији патогена. На основу изнетог, комисија даје позитивну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања</p>
<p>IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:</p> <p>Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:</p> <p>1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме? ДА</p> <p>2. Да ли дисертација садржи све битне елементе? ДА</p> <p>3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци?</p> <p>Црна трулеж купусњача коју проузрокује бактерија <i>X. c. pv. campestris</i> представља значајно обољење које се у Републици Србији појављује сваке године у различитом интензитету. Подаци о одржавању патогена на семену и у земљишту, представљају значајан податак за епидемиологију поменутог патогена у нашим агроклиматским условима. Применом молекуларних метода, патоген је идентификован до нивоа врсте и патогеног варијетета а потом је утврђена сличност са сојевима из Енглеске и Француске, поређењем 16S rRNK секвенци. Према нашим досадашњим сазнањима и прегледом доступних литературних података, флукуација бактерије Хсс у земљишту у односу на период године није до сада утврђена у Србији, као ни у свету, те се резултати овог истраживања могу сматрати првим јавно доступним подацима. Испитивањем осетљивости на различите облике бакра у <i>in vitro</i> условима и испитивањем ефикасности бактерицида у пољским условима, постављене су основе за контролу поменутог обољења.</p> <p>4. Који су недостаци дисертације и какав је њихов утицај на резултат истраживања?</p> <p>Комисија није уочила недостатке који су могли имати утицај на резултате истраживања и изведене закључке.</p>
<p>X ПРЕДЛОГ:</p> <p>На основу наведеног, комисија предлаже:</p> <p>а) да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана; б) да се докторска дисертација врати кандидату на дораду (да се допуни односно измени); в) да се докторска дисертација одбије.</p>

Место и датум:
Нови Сад, 08.05.2023.

1. др Драгана Будаков, ванредни професор
_____, председник

2. др Мила Граховац, ванредни професор
_____, ментор

3. др Јелица Гвоздановић – Варга, научни саветник
_____, члан

4. др Маја Игњатов, научни саветник
_____, члан

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај и да исти потпише.