

Др Александра Булајић, редовни професор на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, ужа научна област Фитопатологија, предсједник

Др Војислав Тркуља, редовни професор на Пољопривредном факултету Универзитета у Источном Сарајеву, ужа научна област Заштита здравља биљака – Фитопатологија, члан

Др Горан Перковић, ванредни професор на Пољопривредном факултету Универзитета у Источном Сарајеву, ужа научна област Хортикултура (Повртарство), члан

НАСТАВНО – НАУЧНОМ ВИЈЕЋУ ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У ИСТОЧНОМ САРАЈЕВУ

Одлуком Наставно–научног вијећа Пољопривредног факултета у Источном Сарајеву, број 04-290/16 од 09. 03. 2016. године, именовани смо у Комисију за оцјену подобности кандидата мр Мехире Первиз и њене теме за докторску дисертацију под насловом **“ПАТОГЕНЕ, МОРФОЛОШКЕ, ОДГАЈИВАЧКЕ И МОЛЕКУЛАРНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ИЗОЛАТА *Alternaria* spp. ПАТОГЕНА МРКВЕ У БОСНИ И ХЕРЦЕГОВИНИ И СРБИЈИ“**, о чему подносимо следећи

ИЗВЈЕШТАЈ

1. Биографски и библиографски подаци кандидата

Мехира (Мустафе) Первиз рођ. Капић је рођена 08. 03. 1970. године у Цазину, гдје је завршила основну и средњу пољопривредно-техничку школу као ученик генерације. Пољопривредни факултет Универзитета у Сарајеву уписала је школске 1988/89 године смјер ратарство. Као апсолвента на датом факултету затекао ју је рат, тако да је исти окончала по завршетку ратних збивања 1996. године са просјеком оцјена 8,0.

Дана 15. 05. 1998. године започела је радни однос као пољопривредни инспектор у органу управе опћина Цазин које послове је обављала скоро два мандата, након тога као стручни сарадник за пољопривредно–савјетодавну службу, затим као стручни савјетник за развој пољопривреде, потом као помоћник начелника у Служби за развој и подузетништво опћине Цазин, и тренутно као помоћник начелника у Служби за инспекцијске послове.

Године 1999. уписала је постдипломски студиј – заштита биља, одсјек фитомедицина и успјешно одбранила магистарски рад *“Puccinia* spp. на подручју Унско-санског кантона“ почетком 2003. године са просјеком оцјена 9,5.

Коаутор је три објављена научна рада. Члан је Друштва за заштиту биља у Босни и Херцеговини. Године 2006. бирана је у звање асистента на групи предмета „Заштита биља“ на Биотехничком факултету Универзитета у Бихаћу.

У протеклом периоду била је аутор и/или коаутор 3 научна рада:

- (1) Завишић, Н., Росић, Ж., Лакић, Ж., **Капић, М.** (2014): Испитивање ефикасности примјене водених екстраката на сузбијању развоја *Botrytis cinerea* и утицаја истих на принос купине. *Pesticidi i Fitomedicina (in press, M24)*.

- (2) Тркуља, В., Пејчић, Ј., Дончић, Д., **Капић, М.** (2014): Епидемијска појава пламењача разних врста гајених биљака на подручју Босне и Херцеговине током 2014. године. XI Симпозијум о заштити биља у Босни и Херцеговини. Зборник радова, стр. 17–18. (М34)
- (3) Јанковић, С., Икановић, Ј., Ракић, С., Поповић, В., Живановић, Љ., Коларић, Љ., **Капић, М.** (2014): Камут (*Triticum turgidum* ssp. *turanicum* (McKey) као ново рјешење за рурални развој. XI Симпозијум о заштити биља у Босни и Херцеговини, Зборник радова, стр. 75–76. (М34).

2. Оцјена приједлога теме докторске дисертације

Кандидат мр Мехира Первиз је у Пријави докторске дисертације предложила план и програм истраживања, веома детаљно указала на преглед досадашњих сазнања, поставила радне хипотезе, дефинисала циљ истраживања и очекиване резултате, а у материјалу и методама рада навела детаљан поступак истраживања.

Комисија је, у даљем тексту извештаја, образложила сва поглавља која чине саставни дио пријаве докторске дисертације мр Мехире Первиз.

У прилогу овог извештаја налази се:

- Списак референци које се односе на наведену тему, а које је кандидат користио као основу при састављању пријаве докторске дисертације.
- Подаци о члановима Комисије, са приложеним референцама које су из области теме докторске дисертације.

2.1. Предмет, програм и значај истраживања

Предмет истраживања предвиђен изразом ове докторске дисертације обухвата проучавање патогених, морфолошких, одгајивачких и молекуларних карактеристика изолата *Alternaria* spp. патогена мркве у Босни и Херцеговини и Србији.

У уводном делу кандидат указује да врсте рода *Alternaria* представљају једне од најзначајнијих гљива патогена фамилије *Apiaceae*. Бројне патогене гљиве угрожавају гајење и производњу биљака из фамилије *Apiaceae*, а међу њима посебан значај имају гљиве из рода *Alternaria*. Као изразити космополити са изузетном способношћу прилагођавања различитим условима спољашње средине, присутне су и у влажним и у семиаридним регионима, гдје могу инфицирати бројне гајене биљке, нападајући листове, стабљике, цвјетове и плодове (Desphande, 2002). Промјене које изазивају на биљкама домаћинима су мрка трулеж корјена, пјегавост лишћа, сушење листова и лисних претељки и др. (Благојевић и сар., 2014).

Alternaria spp. су идентификоване на житима, те на различитим уљаним, повртарским (фам. *Apiaceae*, *Solanaceae*, *Brassicaceae* и др.) и воћним биљним врстама (цитрусима, маслини, јабуци), као и на украсном биљу (Thomma, 2003). Осим штета које проузрокују на пољу и способности развоја при ниским температурама чак и на -3°C (Sommer, 1985), врсте рода *Alternaria* могу проузроковати кварљивост пољопривредних производа током складиштења, транспорта и у процесу прераде (Ostry, 2008). Такође, врсте рода *Alternaria* имају изражену способност да преживе дужи временски период и сачувају виталност и до неколико година (Rotem, 1994).

Бројне фитопатогене гљиве угрожавају гајење и производњу мркве, а међу њима посебан значај имају гљиве из рода *Alternaria*. Гљиве које припадају роду *Alternaria* изазивају комплекс обољења на мркви и проузрокују веће губитке у приносу од било ког другог појединачног патогена. Промјене начина гајења и увођење савремене

интензивне производње мркве додатно су утицале на интензивнију појаву постојећих патогена, посебно оних са широким спектром домаћина, као што су врсте рода *Alternaria*, које паразитирају преко 4.000 различитих биљних врста. Утврђивање патогених, морфолошких, одгајивачких и молекуларних карактеристика ових патогена мркве у Босни и Херцеговини и Србији, је од суштинског значаја за прецизну идентификацију, карактеризацију, утврђивање структуре популације, одређивање путева интродукције и других бројних аспеката њихове филогеографије и епидемиологије. Молекуларна карактеризација већег броја изолата и укључивање додатних дијелова генома допринијеће бољем познавању структуре популације *Alternaria* spp., а такође представиће увод у ближу генетичку карактеризацију морфолошки сличних врста унутар рода *Alternaria* патогених за мркву у Босни и Херцеговини и Србији.

2.2. Циљ и задаци истраживања

Проучавања у оквиру ове докторске дисертације обухватиће утврђивање присуства гљива из рода *Alternaria* патогена мркве у Босни и Херцеговини и Србији, посебно ако се има у виду чињеница да још увијек не постоји довољно сазнања о томе које се врсте појављују као патогени мркве на овом подручју, као и да нема довољно сазнања о њиховој патогености и варијабилности.

Основни циљ истраживања у оквиру ове докторске дисертације односиће се на:

- расвјетљавање и поуздану идентификацију врста из рода *Alternaria*,
- проучавање њихових патогених, морфолошких и одгајивачких карактеристика, као и
- потврда њихове идентификације примјеном молекуларних метода.

Проучавањем генома патогена примјеном молекуларних техника биће омогућена њихова поуздана детекција, идентификација и карактеризација. Поређењем резултата молекуларних истраживања са патогеним, морфолошким и одгајивачким карактеристикама, требало би се добити потпунија карактеризација проучаваних *Alternaria* врста, што је веома важно у разумијевању и праћењу њиховог диверзитета, филогенетске припадности и међусобних филогенетских веза, а што све заједно треба да послужи као основа за подузимање адекватних мјера за њихово сузбијање.

3. Преглед досадашњих истраживања

У поглављу Преглед литературе, представљени су доступни литературни подаци из области проучавања докторске дисертације. У оквиру овог поглавља приказани су подаци везани за карактеристике патогена (*Alternaria* spp.), економски значај, затим симптоме обољења, циклус развоја, токсине и варијабилност патогена. Посебно је указано је на систематику рода *Alternaria*, као и најзначајније врсте рода *Alternaria*, патогена мркве.

Прегледом расположиве литературе може се закључити да су врсте рода *Alternaria* широко распрострањене и могу инфицирати око 4.000 различитих домаћина (Pryor *et al.*, 2002). Гљиве које припадају роду *Alternaria*, нарочито *Alternaria dauci* (Kühn) Groves *et* Skolko, проузроковач лисне пјегавости и сушења листа мркве и *Alternaria radicina* Meier, Drechsler *et* Eddy, проузроковач црне трулежи корјена мркве, могу да угрозе цјелокупну производњу мркве (Петровић и сар., 2010). *Alternaria dauci* је проузроковач болести познате као лисна пјегавост или алтернаријско сушење листа мркве (Gonsalves *et* Ferreira, 1994; Pryor *et* Strandberg, 2002; Pryor, 2003). *Alternaria* је први пут описана на мркви у Нјемачкој 1855. године, након чега је саопштено о

спорадичној појави ове болести у још неколико европских земаља. Због проблема са класификацијом и номенклатуром гљива из рода *Alternaria*, *A. dauci* је у литератури описивана под различитим именима и њени најчешћи синоними су: *Sporidesmium exitiosum* Kühn var. *dauci* Kühn, *Macrosporium carotae* Ellis et Langlois, *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. var. *dauci* Bolle, *Alternaria porri* (Ellis) Ciferri f. sp. *dauci* (Kühn) Neergaard (Farar et al., 2004).

Alternaria dauci је члан **porri** групе гљива из рода *Alternaria*, коју карактерише велико, крупно тијело конидије и присуство дугог, чврсто усправљеног до кончастог кљуна, као и појединачно формиране конидије (Pryor et Strandberg, 2002; Farar et al., 2004). Установљен круг домаћина *A. dauci* ограничен је на гајену и дивљу мркву (David, 1988; Pryor, 2003; Farar et al., 2004). Ипак, за *A. dauci* је такође саопштено да изазива болест на дивљем паштрнаку и *Fumaria muralis* (Soteris, 1979; loc. cit. Farar et al., 2004), као и на целеру и першуну (Neergaard, 1977; loc. cit. Farar et al., 2004). Због сушења и пропадања лисне масе *A. dauci* смањује принос корјена, а у сјеменској производњи и принос сјемена. На обољелом лишћу настају локалне пјеге, тамномрке боје, неправилног облика, најчешће на ивици листа. Пјеге се временом увећавају, увећава се и њихов број и покривају велики део лисне масе. Лисне петелке могу бити прстенасто захваћене услед чега се лист суши.

Alternaria radicina Meser, Drechsler et Eddy изазива црну трулеж коријена мркве (Pryor, 2002). Због недовољно одређених критеријума у класификацији и номенклатури гљива из рода *Alternaria*, *A. radicina* је описивана под синонимима *Stemphylium radicinum* (Meier et al.) Neergaard, *Pseudostem phylum radicinum* (Meier et al.) Subramanian (Farar et al., 2004). *Alternaria radicina* је репрезентативни представник **radicina** групе гљива из рода *Alternaria* (Pryor et Gilbertson, 2002) и за њу је карактеристично да формира диктиоспорне конидије, без кљуна које се формирају појединачно, врло ријетко у кратким низовима од двије. *A. radicina* је позната првенствено као патоген мркве, одговорна за болест корјена и круне, која под одређеним условима може проузроковати и сушење листова. Ова врста као патоген целера, першуна, паштрнка и кима (Pryor, 2002; Farrar et al., 2004), проузрокује сушење клијанаца, сушење круне и листова и црну трулеж корјена. Симптоми се најчешће испољавају у виду ситних браонкастих лезија са хлоротичним ореолом које се спајају образујући црне лезије, посебно у основи лисне петелке ширећи се даље према корјену (Koike, 2006).

У оквиру систематике рода *Alternaria*, кандидат наводи да постоји више различитих класификација рода *Alternaria*, а најчешће се наводи следећа (Булајић, 2006; Battilani et al., 2009):

Царство: *Fungi*

Раздео: *Ascomycota*

Класа: *Euascmycetes*

Ред: *Pleosporales*

Фамилија: *Pleosporaceae*

Род: *Alternaria*

С обзиром да код већине *Alternaria* врста није идентификован полни стадиј, овај род је класификован у збирну групу *Deuteromycetes* (Fungi Imperfecti – несавршене гљиве) (Thomma, 2003; Balaž i sar., 2010). Cooke et al. (1998) и Thomma (2003) сматрају да неке врсте рода *Alternaria* представљају бесполни стадиј аскомицета *Pleospora*, док

се за друге наводи да су анаморфи врста из родова *Clathrospora* и *Leptosphaeria* (Battilani *et al.*, 2009).

У даљем тексту кандидат наводи да иако код већине *Alternaria* врста није утврђен полни стадиј, познати телеморфи *Alternaria* припадају роду аскомицета *Lewia* Barr *et* Simmons (Ivanović i Ivanović, 2001; Simmons, 2007). Род *Alternaria* обухвата велики број изразито варијабилних и широко распрострањених врста. Процјењује се да постоји неколико стотина врста овог рода (Rotem, 1994). У природној популацији врста *Alternaria* постоји пуно прелазних облика, чије се поједине особине понекад преклапају са особинама друге врсте истог рода. Због варијабилности њихових морфолошких особина, таксономија врста *Alternaria* је веома сложена. У литератури се наводе различите групације од којих је најприхватљивија следећа подјела (Andersen *et al.*, 2009; Polizzotto *et al.*, 2012):

- **A. alternata група** (припадају врсте: *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. arborescens*, *A. destruens*, *A. longipes*, *A. gaisen*, *A. citri*),
- **A. radicina група** (припадају врсте: *A. radicina*, *A. carotiincultae*, *A. petroselini*, *A. selini*, *A. smyrnii*);
- **A. porri група** (припадају врсте: *A. dauci*, *A. crassa*, *A. macrospora*, *A. porri*, *A. solani*, *A. tomatophila*);
- **A. infectoria група** (припадају врсте: *A. arbusti*, *A. ethzedi*, *A. infectoria*, *A. metachromatica*, *A. conjuncta*, *A. oregonensis*, *A. photistica*, *A. triticimaculans*, *A. triticina*, *A. viburni*, *A. intercepta* i *A. novae-zelandinae*).

Врсте које припадају групи *A. alternata* производе микотоксине као што су алтернариол (АОН), алтернариол метил етар (АМЕ) и тетуазоичну киселину и осим што нарушавају здравље биљака, узрокују смањења квалитета готових производа и доводе до значајних економских губитака у производњи и преради. Врсте *Alternaria* из групе *A. porri* проузрокују обољења на мркви, црном луку, кромпиру и парадајзу и произвођачи су микотоксина АОХ, алтертоксина и алтерсоланола. Групи *A. radicina* припадају најзначајнији патогени сјемена мркве који продукују фитотоксичне метаболите радицин и радицинол. За разлику од претходних врста у групи *A. infectoria* су сапрофитни и ендифитни паразити стрних жита и складиштених житарица који стварају метаболите инфектопироне и нове-зеландин који су специфични искључиво за ову групу и не појављују се код других врста.

Врсте рода *Alternaria* су изразито космополити са изузетном способношћу прилагођавања различитим условима спољашње средине. Као биљни патогени, *Alternaria* spp. су проузроковачи карактеристичног обољења познатог као црна пјегавост и појављују се на великом броју биљних врста нападајући листове, стабљике, цвјетове и плодове. Главни су контаминенти пшенице, јечма, ражи и овса (Bensassi *et al.*, 2009; Tóth *et al.*, 2011; Andersen *et al.*, 2015). Осим стрних жита, врсте рода *Alternaria* су утврђене и на уљаним биљкама (сунцокрет, уљана репица) (Meena *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2014), као и на парадајзу (Noser *et al.*, 2011; Andersen *et al.*, 2015), паприци, кромпиру (Zheng *et al.*, 2015), мркви (Konstantinova *et al.*, 2002; Pryor *et* Gilbertson, 2002; Farrar *et al.*, 2004), јабукама (Ntasiou *et al.*, 2015) и другом воћу и поврћу (Logrieco *et al.*, 2009).

Simmons (2007) сматра да је за таксономију и класификацију гљива из било ког рода, па тако и из рода *Alternaria*, неопходно да се повеже име неке врсте са сталним морфолошким особинама, као и са биологијом те врсте, односно патогеношћу, репродукцијом, физиологијом и другим особинама, те и да савремене методе идентификације захтјевају детаљнија проучавања у циљу утврђивања морфолошких и физиолошких особина, као и филогенетске припадности. Таксономија рода *Alternaria* се базира на морфологији и развоју конидија и конидиофора гљиве (Simmons *et*

Roberts, 1993) који могу бити врло варијабилни, што ствара велике потешкоће приликом идентификације. Због недовољно јасних критерија и велике варијабилности ове групе фитопатогена, класификација овог рода је у многим случајевима нејасна (Simmons, 2007). Најчешћи и најпоузданије коришћени морфолошки карактери за идентификацију ових гљива су конидије и њихове димензије, број трансверзалних и лонгитудиналних септи и начини гранања конидиофора. Lawrence *et al.* (2012) наводе да су морфолошке карактеристике врло корисне и неопходне за раздвајање највећег броја врста рода *Alternaria*. Обзиром да су *A. dauci* и *A. radicina* гљиве које се преносе сјеменом, веома је важна тачна идентификација патогена. Правилна идентификација присуства *A. dauci* и *A. radicina* може се обавити примјеном конвенционалних, али и савремених молекуларних метода детекције (Konstantinova *et al.*, 2002; Pryor *et al.*, 2002).

У пријави докторске дисертације је наведен значајан број референци. Избор референци је актуелан и одговара проучаваној проблематици.

4. Значај истраживања са становишта актуелности у одређеној научној области

Тема докторске дисертације веома је актуелна са аспекта науке и струке, у области фитопатологије и уопште заштите биља, као и у области повртарства.

Тачна идентификација и карактеризација одређеног патогена први је и основни корак ка смисленом проучавању њихове патогености и епидемиологије. Литературни подаци сугеришу да је осим проучавања морфолошких и одгајивачких карактеристика гљива из рода *Alternaria*, као патогена мркве, овај род неопходно проучавати и са молекуларног аспекта, јер постоје индиције да је на подручју Босне и Херцеговине и Србије на мркви присутно неколико врста из овог рода.

У оквиру ових истраживања, анализа заражених узорака урадиће се примјеном више метода детекције и идентификације у циљу поузданог утврђивања које врсте рода *Alternaria* се појављују као патогени на подручју Босне и Херцеговине и Србије, те да се на основу проучавања патогених, морфолошких, одгајивачких и молекуларних карактеристика изврши њихова карактеризација што треба да послужи као основа за подузимање адекватних мјера за њихово сузбијање.

5. Материјал и методе рада

За реализацију предложеног програма, истраживања ће се обавити у пољским и у лабораторијама условима.

5.1. Прикупљање узорака

У циљу проучавања варијабилности патогених врста из рода *Alternaria* изолованих са мркве, током 2014, 2015. и 2016. године сакупљане су и сакупиће се узорци обољелих различитих дијелова биљака мркве са ширег подручја Босне и Херцеговине и Србије са испољеним карактеристичним симптомима које узрокују гљиве из рода *Alternaria*. Из обољелог ткива прикупљених биљака вршиће се изолација патогених гљива уобичајеним фитопатолошким методама. Узорци ће бити транспортовани у лабораторију у папирним кесама, гдје ће се потом приступити изолацији патогена. Из сакупљених узорака листова, лисних петелки, корјена и сјемена мркве биће обављена изолација према стандардном фитопатолошком поступку (Dhingra *et al.*, 1986).

5.2. Изолација гљива

Чисте културе *Alternaria* врста биће изоловане из обољелих биљних дијелова, који су прикупљени из већег броја локалитета у којима се узгаја мрква на подручју Босне и Херцеговине и Србије у периоду од 2014. до 2016. године. Изолација патогена вршиће се према методи Dhingra *et* Sinclair (1986). Обољело лишће са симптомима површински ће бити дезинфиковано у 3% раствору натријум хипохлорита (NaOCl) у трајању од 30 секунди. Ситни фрагменти који ће бити узимани са прелаза обољелог и здравог ткива листа и корјена мркве, као и обољеле појединачне сјеменке мркве ће бити засијаване у Петри кутије са стерилном кромпир-декстрозном подлогом (PDA) (Dhingra *et* Sinclair, 1986). Петри кутије ће бити постављене на инкубацију у термостат при температури од 24°C. Након три дана развоја, дио мицелије пресијаће се на нову PDA подлогу и инкубирати при 24°C пет дана чиме ће се добити чисти изолати гљиве. За даљи рад одабраће се репрезентативни изолати. За добијање моноспоријалних изолата, у Петри кутије додаваће се 10 ml стерилне воде, након чега ће се благим утрљавањем помоћу стакленог штапића скидати мицелија са конидијама како би се одвојила од подлоге. Након тога припремиће се разређења од 10^{-1} и 10^{-2} из којих ће се по 0,1 ml засијавати на водени агар (WA) према методи Dhingra *et* Sinclair (1986). Након инкубације у трајању од 12 h, појединачне проклијале конидије засијаваће се на PDA подлогу, након чега ће се поставити у термостат при температури од 24°C. Моноспоријални изолати ће се потом пресијавати у епрувете са закошеном PDA подлогом и на тај начин формирати колекција изолата која ће бити чувана у фрижидеру при температури од 4°C. Изолације гљива из земљишта вршиће се методом мамака (Fox, 1993) из узорака прикупљених у наведеним локалитетима. У земљиште ће бити усађени здрави клијанци мркве, који су претходно одгајени у стерилисаном пијеску. Клијанци ће потом бити гајени у земљишту до појаве симптома, а као контрола послужиће клијанци одгајени на исти начин, али усађени у стерилисан пијесак. Из клијанаца са симптомима, извршиће се изолација на исти начин као што је описано за изолацију из надземних дијелова. Изолација из сјемена ће бити обављена из одабраних узорака сјемена које ће се претходно наклијавати на филтер папиру (Fox, 1993; Ivanović *i* Mijatović, 2003). Наклијавање на филтер папиру ће бити обављено тако што ће из одабраних узорака по 100 површински стерилисаних сјеменки у 2% натријум-хипохлориту (NaOCl), у трајању од 2 минута, бити постављано на влажан филтер папир у Петри кутије, након чега ће бити инкубирано у мраку при 28°C до клијања сјемена. Из сјемена које није клијало, као и из клијанаца лошег здравственог стања, вршиће се изолација наведеним методама.

5.3. Проучавање морфолошких особина одабраних изолата *Alternaria* spp

Проучавање морфолошких особина *Alternaria* spp. изолованих из мркве биће обављена на основу проучавања макроскопских и микроскопских својстава одабраних моноспоријалних изолата ових гљива према критеријумима Мунтанола-Цветковић (1987). Испитивање *макроскопских особина* ће подразумевати проучавање изгледа и особина колонија гљива гајених на PDA подлози при 24°C. При томе ће бити одређени пречник, изглед и боја колоније, изглед и боја ивице колоније, присуство плодноних творевина и лучење пигмената и кристала у подлогу. Осим тога, испитивани изолати ће бити засијавани на закошену PDA подлогу и чувани три мјесеца при 4°C, након чега ће се одредити њихова способност да формирају радицинину сличне жуте кристале (Pryor *et* Gilbertson, 2002).

Испитивање *микроскопских својстава* обухватиће утврђивање облика и димензија конидија чистих култура одабраних изолата гљиве гајених седам дана на PDA подлози

у мраку при 25°C. Све димензије ће бити мјерене на случајно одабраним, потпуно формираним и зрелим конидијама које ће бити одговарајуће обојености, како то препоручују Pryor *et* Gilbertson (2002). Просјекном обрачунатим за најмање 100 поновљених мјерења, одређиваће седужина и ширина конидија.

За морфолошку детекцију гљива користиће се *филтер папир метод* и *метод изолације на хранљивој подлози* (ISTA Rules, 2010), према методи које наводе Mathur *et* Kongsdal (2003) и према ISTA Rules (2010).

5.4. Проучавање одгајивачких карактеристика одабраних изолата из рода *Alternaria*

Проучавање одгајивачких особина испитиваних изолата *Alternaria* spp. обухватиће одређивање пораста и спорулације на различитим хранљивим подлогама, на различитим рН врједностима подлоге, на различитим температурама и у условима различитог осветљења. Испитивање утицаја хранљивих подлога на морфологију, пораст и спорулацију изолата вршиће се на различитим подлогама. Интензитет спорулације, одредиће се помоћу хемоцитометра, мјерењем концентрације конидија у суспензији (Мунтанола–Цветковић, 1987). Испитивање утицаја киселости подлоге на морфологију, пораст и спорулацију изолата вршиће се на PDA подлози. Утицај свјетлости на морфологију колонија, пораст и спорулацију изолата испитиваће се на PDA подлози у различитим условима осветљења при температури 24°C током 5 дана. Изолати ће бити излагани сталној вјештачкој свјетлости, сталном мраку и смјени свјетлост/мрак 8-16^h.

5.5. Проучавање патогених карактеристика одабраних изолата из рода *Alternaria*

Сви изолати, без обзира на начин изолације биће издвојени у виду моноспоријалне културе и њихова патогеност провјерена тако што ће суспензија конидија бити наносена прскањем на сијанце различитих сорти мркве (Strandberg, 1987; Pryor *et* Gilbertson, 2002). Способност испитиваних изолата да заразе корјен мркве биће испитиван вјештачким инокулацијама корјенова засјецањем и уметањем фрагмената колоније (Fox, 1993). Способност испитиваних изолата да заразе лисне петелјке мркве и изазову на њима некрозу одговарајуће дужине биће анализирана по модификованој методи D'Ercole (1991); *loc. cit.* Obradović-Vico (1992). Испитивање круга домаћина одабраних изолата *Alternaria* spp. биће обављена вјештачким инокулацијама сијанаца различитих биљака из фамилије *Apiaceae*, и то: мрква (*Daucus carota*), першун (*Petroselinum hortense*), целер (*Apium graveolens*), паштрнак (*Pastinaca sativa*), мирођија (*Anethum graveolens*), анис (*Pimpinella anisum*), морач (*Foeniculum vulgare*), коријандер (*Coriandrum sativum*) и ким (*Carum carvi*).

5.6. Молекуларна идентификација и карактеризација одабраних изолата *Alternaria* spp.

Досадашња истраживања су показала да морфолошке и одгајивачке карактеристике нису довољне за правилну детерминацију гљива рода *Alternaria*. Из тог разлога, у овим истраживањима биће спроведена молекуларна идентификација прикупљених изолата. У циљу молекуларне детекције добијених изолата *Alternaria* поријеклом из Босне и Херцеговине и Србије, као и потврде резултата добијених конвенционалним фитопатолошким методама примјениће се метода ланчане реакције полимеразе (Polymerase Chain Reaction, PCR).

Одабрани изолати биће гајени у течној кромпир декстрозној чорби (PDB, potato dextrose broth) (Konstantinova *et al.*, 2002). Припремљених 150 ml PDB засијаће се са пет фрагмената колоније из култура старих 7 дана одгајених на PDA, на 24°C, без

присуства свјетлости. Засијане Ерлен мајер колбе инкубираће се 15 дана у термостату у мраку, при 24°C. Течне културе одабраних изолата филтрираће се преко слоја филтер папира, а мицелија осушити под вакумом. Осушена мицелија замрзнуће се на -80°C и тако ће се чувати до коришћења. Из мицелије испитиваних изолата биће екстраховане ДНК по методи Day *et Shattock* (1997).

PCR реакција ће бити обављена са паром универзалних прајмера ITS1/ ITS4 (Konstantinova *et al.*, 2002) који омогућавају амплификацију и касније секвенционирање ITS региона (Internal transcribed spacer) рибозомалне ДНК Еукариота. PCR реакција обављена је у радној запремини од 25 µl, коришћењем 12,5 µl 2X PCR Master mixa (Fermentas, Lithuania), 9 µl RNase-free воде, по 1,25 µl сваког прајмера (100 pmol/µl) и 1 µl екстраховане укупне ДНК. Као негативна контрола ће бити коришћена RNase-free вода која ће бити додата у припремљену PCR смешу уместо циљане ДНК. PCR реакција ће бити изведена при следећим условима: иницијална денатурација нуклеинских киселина 2 мин на 94°C; 35 циклуса који се састоје од денатурације 2 мин на 94°C, хибридизације 30 s на 57°C, елонгације 1 мин на 72°C, праћено финалном елонгацијом на 72°C у трајању од 10 мин. Визуелизација умножених продуката PCR реакција биће обављена према методи Дудука (2003) електрофоретским раздвајањем нуклеинских киселина у 1% агарозном гелу у 1 x TBE пуферу, бојењем Midori Green DNA Stain (Nippon Genetics) и посматрањем под UV-трансилуминатором. За одређивање величине умноженог ампликона користиће се маркер MassRulerTMDNA ladder, Mix (Fermentas Life Sciences GmbH, Lithuania). Позитивном реакцијом ће бити сматрана појава трака продукта очекиване величине 500-600 bp. На основу добијених резултата урадиће се морфолошки профил врста и за сваку идентификовану врсту одабрати неколико репрезентативних изолата на основу којих ће бити спроведена њихова молекуларна карактеризација. Ова техника представља *in vitro* умножавање (амплификацију) одређених ДНК секвенци или локуса, помоћу специфичних или арбитарних олигонуклеотидних секвенци (прајмера) и термостабилне ДНК полимеразе (Живковић, 2007). Са развојем PCR технике, развијен је велики број молекуларних маркера, који се могу користити за детекцију, карактеризацију и оцјењивање диверзитета патогена. За одређивање филогенетских, еволутивних и таксономских односа популација и врста поред молекуларних маркера, користиће се и секвенце одређених дјелова ДНК. Ове секвенце примјењују се у таксономској идентификацији и истраживању диверзитета различитих организама (Setti *et al.*, 2011). Умножени фрагменти одабраних изолата *Alternaria* spp., биће послати на пречишћавање и услужно секвенционирање у оба смјера на ABI 3730XL Automatic Sequencer у MacroGen, Inc (<http://dna.macrogen.com>, Korea). Добијене секвенце обрадиће се у програму FinchTV Version 1.4.0., а консензус нуклеотидне секвенце поднијет у GenBank базу података, где ће им бити додјељен приступни број (GenBank Accession Number). BLAST анализом и вишеструким поређењем са доступним секвенцама у GenBank бази података (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) помоћу CLUSTAL W програма (Thompson *et al.*, 1994), биће обављена потврда идентификације. За прорачун генетичке удаљености и највиши степен нуклеотидне сличности, након тримовања секвенци на дужину најкраће секвенце употребиће се софтверски пакет MEGA верзија 5.0. (Tamura *et al.*, 2011).

Предвиђено вријеме за израду докторске дисертације је у наредне двије године.

6. Очекивани резултати

Очекује се да ће ова истраживања допринијети расвјетљавању патогених, морфолошких и одгајивачких карактеристика врста из рода *Alternaria*, као и поуздану идентификацију патогена. Развијање и примјена протокола за молекуларну

идентификацију пружиће основу за брзу и прецизну идентификацију патогена. Од великог значаја је и то што ће добијени резултати представљати увод у ближу карактеризацију врста из рода *Alternaria* на ширем подручју Босне и Херцеговине и Србије.

7. ЗАКЉУЧНО МИШЉЕЊЕ И ПРИЈЕДЛОГ

На основу анализе поднете пријаве и предложеног програма дисертације, научног циља, радне хипотезе, као и материјала и метода докторске дисертације Мр Мехире Первиз, под насловом **“ПАТОГЕНЕ, МОРФОЛОШКЕ, ОДГАЈИВАЧКЕ И МОЛЕКУЛАРНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ИЗОЛАТА *Alternaria* spp. ПАТОГЕНА МРКВЕ У БОСНИ И ХЕРЦЕГОВИНИ И СРБИЈИ“**, Комисија сматра да је изабрана тема веома актуелна, интересентна, значајна и оправдана како са становишта науке тако и са становишта праксе у заштити биља. Анализом поднете пријаве, предложени наслов одговара постављеном циљу и програму истраживања.

Научни допринос ове дисертације огледаће се у утврђивању патогених, морфолошких, одгајивачких и молекуларних карактеристика изолата *Alternaria* spp. патогена мркве у Босни и Херцеговини и Србији. Свеобухватна карактеризација врста из рода *Alternaria* на наведеном подручју пружиће значајне информације о наведеним патогенима што је од значаја за фитопатолошка истраживања уопште.

Узимајући у обзир све напред наведено, као и чињеницу да је Кандидаткиња пријавила дисертацију по упутству, Комисија за оцену подобности Кандидата и њене поднете пријаве докторске дисертације констатује да докторска дисертација под насловом **“ПАТОГЕНЕ, МОРФОЛОШКЕ, ОДГАЈИВАЧКЕ И МОЛЕКУЛАРНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ИЗОЛАТА *Alternaria* spp. ПАТОГЕНА МРКВЕ У БОСНИ И ХЕРЦЕГОВИНИ и СРБИЈИ“**, испуњава законом све прописане услове, те предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Источном Сарајеву да усвоји позитиван извештај Комисије и да кандидату мр Мехири Первиз одобри израду докторске дисертације под напред наведеним насловом, и именује ментора за израду исте.

Београд – Источно Сарајево
05. 04. 2016. године

Чланови Комисије:

Др Александра Булајић, редовни професор на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, ужа научна област Фитопатологија, председник

Др Војислав Тркуља, редовни професор на Пољопривредном факултету Универзитета у Источном Сарајеву, ужа научна област Заштита здравља биљака – Фитопатологија, члан

Др Горан Перковић, ванредни професор на Пољопривредном факултету Универзитета у Источном Сарајеву, ужа научна област Хортикултура (Повртарство), члан

Прилог 1: Списак коришћене литературе

1. Agnew, K. (2001): *Alternaria* leaf spot. Crop profile for Parsley in Arizona. <http://www.impcenters.org/cropprofiles/dics/AZ-parsley.html>.
2. Andersen, B., Nielsen, K. F., Pinto, V. F., Patriarca, A. (2015): Characterization of *Alternaria* strains from Argentinean blueberry, tomato, walnut and wheat. *International journal of food microbiology*, **196**: 1–10.
3. Andersen, B., Sørensens, J. L., Nielsen, K. F., Gerrits van den Ende, B., de Hoog, S. (2009): A polyphasic approach to the taxonomy of the *Alternaria* infectoria species-group. *Fungal Genetics and Biology*, **46**: 642–656.
4. Balaž, F., Balaž, J., Tošić, M., Stojšin, V., Bagi, F. (2010): Fitopatologija: bolesti ratarskih i povrtarskih biljaka. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
5. Battilani, P., Costa, L. G., Dossena, A., Gullino, M. L., Marchelli, R., Galaverna, G., Pietri, A., Dall'Asta, C., Giorni, P., Spadaro, D., Gualla, A. (2009): Scientific information on mycotoxins and natural plant toxicants. CFP/EFSA/CONTAM/2008/01, Scientific technical report submitted to EFSA, <http://www.efsa.europa.eu/de/scdocs/doc/24e.pdf>.
6. Bensassi, F., Zid, M., Rhouma, A., Bacha, H., Hajlaoui, M. R. (2009): First report of *Alternaria* species associated with black point of wheat in Tunisia. *Annals of microbiology*, **59** (3): 465–467.
7. Blagojević, J., Oro, V., Nikolić, I., Popović, T., Aleksić, G., Gavrilović, V., Ivanović, Ž. (2014): Morfo-fiziološka proučavanja izolata *Alternaria* spp. poreklom sa celera. *Zaštita bilja* **287**: 15–26.
8. Bulajić, A., Stanković, I., Milojević, K., Krstić, B. (2014a): *Alternaria petroselini* pathogen of parsley in Serbia. Abstracts of Carrot and other Apiaceae International Symposium, Angers, France, pp. 71.
9. Bulajić, A., Stanković, I., Vučurović, A., Milojević, K., Nikolić, D., Krstić, B. (2014b): *Alternaria* spp. na štitonošama u Srbiji – taksonomski status. Zbornik rezimeja XI Simpozijuma o zaštiti bilja u Bosni i Hercegovini, str. 8–9. Teslić.
10. Bulajić, A. (2006): Identifikacija i taksonomski međuodnos vrsta roda *Alternaria* Ness patogenih za povrtarske i začinske biljke familije *Apiaceae* u Srbiji. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu.
11. 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. *Arch. Biol. Sci., Belgrade* **61** (4): 871–881.
12. Bulajić, A., Krstić, B. (2007): Patogeni mrkve (*Alternaria radicina*, *A. dauci*). *Biljni lekar* **6**: 595–604.
13. Coles, R. B., Hall, B. H., Wicks, T. J. (2003): Fumatory as a host of the pathogen *Alternaria radicina* in South Australia. South Australlia Research Center.
14. Cooke, D., Forster, J., Jenkins, P., Jones, G., Lewis, M. (1998): Analysis of intraspecific and interspecific variation in the genus *Alternaria* by the use of RAPD-PCR. *Annals of Applied Biology*, **132**: 197–209.
15. David, J. C. (1988): *Alternaria dauci*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. No. 951.
16. Day, J. P. and Shattock, R. C. (1997): Agressiveness and other factors relating to displacement of population of *Phytophthora infestans* in England and Wales. *Eur. J. Plant Pathol.* **103**: 379-391
17. Desphande, S. S. (2002): Fungal Toxins. In: „Handbook of food toxicology (Desphande S.S., eds.), pp. 387–456“, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel.
18. Dhingra, O. D., Sinclair, J. B. (1986): Basic Plant Pathology Methods. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, pp. 1–355.

19. Duduk, B., Ivanović, M., Dukić, N., Botti, S., Bertaccini, A. (2003): First report of Elm yellows subgroup 16SrV-C phytoplasma infecting grapevine in Serbia. *Plant Disease*, **87** (5): 599.
20. Farrar, J. J., Pryor, B. M., Davis, R. M. (2004): *Alternaria* diseases of carrot. *Plant Disease*, **88** (8): 776–784.
21. Fox, R. T. V. (1993): Principles of diagnostic techniques in plant pathology. CAB International, Wallingford, pp. 1-204.
22. Gonsalves, A. K., Ferreira, S. A. (1994): Pathogens and Hosts. *Collegato Tropical Agriculture and Human Resources*. University of Hawaii and Manoa.
23. Ivanović, M., Ivanović, D. (2001): Mikoze i pseudomikoze biljaka. Poljoprivredni fakultet, Beograd, str. 1–547.
24. Ivanović, M., Mijatović, M. (2003): Patogene gljive semena povrća. *Biljni lekar* **6** : 595-603
25. Koike, S. T., Gladders, P., Paulus, A. O. (2006): *Vegetable diseases: A color handbook*. Boston: Academic Press.
26. Konstantinova, P., Bonants, P. J., Van Gent-Pelzer, M. P., van der Zouwen, P., van den Bulk, R. (2002): Development of specific primers for detection and identification of *Alternaria* spp. in carrot material by PCR and comparison with blotter and plating assays. *Mycological Research*, **106** (01): 23–33.
27. Lawrence, D. P., Gannibal, P. B., Peever, T. L., Pryor, B. M. (2013): The sections of *Alternaria*: formalizing species–group concepts. *Mycologia*, **105** (3): 530–546.
28. Logrieco, A., Moretti, A., Solfrizzo, M. (2009): *Alternaria* toxins and plant diseases: an overview of origin, occurrence and risk. *World Mycotoxin Journal*, **2**: 129–140.
29. Mathurm, S. B., Kongsdal, O. (2003): Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi. ISTA, Zürich, Switzerland.
30. Meena, P. D., Awasthi, R. P., Chattopadhyay, C., Kolte, S. J., Kumar, A. (2010): *Alternaria* blight: a chronic disease in rapeseed-mustard. *Journal of Oilseed Brassica*, **1** (1): 1–11.
31. Muntanola-Cvetković, M. (1987): Opšta mikologija. Niro Književne novine, pp. 13–320. Beograd.
32. Noser, J., Schneider, P., Rother, M., Schmutz, H. (2011): Determination of six *Alternaria* toxins with UPLC-MS/MS and their occurrence in tomatoes and tomato products from the Swiss market. *Mycotoxin research*, **27** (4): 265–271.
33. Ntasiou, P., Myresiotis, C., Konstantinou, S., Papadopoulou-Mourkidou, E., Karaoglanidis, G. S. (2015): Identification, characterization and mycotoxigenic ability of *Alternaria* spp. causing core rot of apple fruit in Greece. *International Journal of Food Microbiology*, **197**: 22–29.
34. Obradović-Vico, I. (1992): Etiološka proučavanja truleži izdanka i korena jagode. Magistarska teza, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet Beograd-Zemun, 1–222.
35. Ostry, V. (2008): *Alternaria* mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin Journal* **1** (1): 175–188.
36. Petrović, D., Ignjatov, M., Vujaković, M., Nikolić, Z., Taški-Ajduković, K., Jovičić, D. (2011): Izolacija i detekcija gljiva *Alternaria dauci* (Kühn) Groves et Skolk i *Alternaria radicina* Meier, Drechsler et Eddy iz semena mrkve. *Ratar. Povrt./Field Veg. Crop Res.* **48**: 173–178.
37. Polizzotto, R., Andersen, B., Martini, M., Grisan, S., Assante, G., Musetti, R. (2012): A polyphasic approach for the characterization of endophytic *Alternaria* strains isolated from grapevines. *Journal of Microbiological Methods*, **88** (1): 162–171.

38. Pryor, B. (2003): *Alternaria* online. University of Arizona. <http://ag.arizona.edu/PLP/alternaria/online>
39. Pryor, B. M., Gilbertson R. L. (2001). A PCR-based assay for detection of *Alternaria radicina* on carrot seed. *Plant Dis.* **85**: 18–23.
40. Pryor, B. M., Gilbertson, R. L. (2002): Relationships and taxonomic status of *Alternaria radicina*, *A. carotiincultae* and *A. petroselini* based upon morphological, biochemical and molecular characteristics. *Mycologia* **94** (1): 49–61.
41. Pryor, B. M., Strandberg, J. O., Davis, R. M., Nunez, J. J., Gilbertson, R. L. (2002): Survival and persistence of *Alternaria dauci* in carrot cropping systems. *Plant. Disease* **86**: 1115–1122.
42. Pryor, B. M., Strandberg, J. O. (2002): *Alternaria* leaf blight of carrot. *In*: Compendium of Umbelliferous Crop Diseases (Eds. R. M. Davis *et* R. N. Raid), pp. 15–16. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
43. Raid, R., Roberts, P. (2004): *Alternaria* leaf spot (*Alternaria radicina*). Specific common diseases. *In*: „2004 Florida Plant Disease Management Guide: Parsley“.
44. Ristić, D., Aćimović, M., Trkulja, N. (2014): Morphological and molecular identification of *Alternaria alternata* – caraway fruits pathogen in Serbia. *Plant Protection*, **290**: 163–169.
45. Rotem, J. (1994): The genus *Alternaria*, Biology, Epidemiology and Pathogenicity. APS Press, St Paul, Minnesota, 1–325.
46. Setti, B., Bencheikh, M., Henni, J. E., Claire, N. (2011): Advances of molecular markers application in plant pathology research. *European Journal of Scientific Research*, **50**: 110–123.
47. Simmons, E. G., Roberts R.G. (1993): *Alternaria* themes and variations. *Mycotaxon* **48**: 109–140.
48. Simmons, E. (2007): *Alternaria*. An Identification Manual. Utrecht, the Netherlands: CBS Biodiversity Series 6, 1–775: <http://www.mycobank.org/>
49. Stanković, I., Milojević, K., Vučurović, A., Nikolić, D., Krstić, B., Bulajić, A. (2014): Morphological and molecular identification of *Alternaria petroselini* pathogen of parsley in Serbia. Book of Abstracts of VII Congress on Plant Protection “Integrated Plant Protection Knowledge-Based Step Towards Sustainable Agriculture, Forestry and Landscape Architecture”, Zlatibor, Serbia, pp. 302–303.
50. StatSoft, Inc. (2010): STATISTICA (data analysis software system), version 10.
51. Strandberg, J. O. (1987): Isolation, storage and inoculum production methods for *A. dauci*. *Phytopathology* **77**: 1008–1012.
52. Tamura, K. (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* **28**: 2731–2739.
53. Thomma, B. P. H. J. (2003): *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*, **4**: 225–236.
54. Wan, G. K., Suaresh, B. M. (2006): Detection of *Alternaria* spp. in carrot seeds and effect of the fungus on seed germination and seedling growth of carrot. *Plant Pathol. J.*, **22**: 11–15.
55. Wang, T., Zhao, J., Sun, P., Wu, X. (2014): Characterization of *Alternaria* species associated with leaf blight of sunflower in China. *European Journal of Plant Pathology*, **140** (2): 301–3
56. Živković, M. (2007): Osnovni principi PCR metode i njena primena u kliničkoj praksi. *Medicinski časopis*, **41** (2): 32–37.

Прилог 2: Подаци о члановима Комисије са референцама које су из области теме докторске дисертације

1. др **Александра Булајић**, редовни професор, Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет у Београду. Ужа научна област: Фитопатологија

Референце из области теме докторске дисертације:

1. Duduk, B., **Bulajić, A.**, Duduk, N., Calari, A., Paltrinieri, S., Krstić, B., Bertaccini, A. (2007): Identification of phytoplasmas belonging to aster yellows ribosomal group in vegetables in Serbia. *Bulletin of Insectology* **60**: 341–342.
2. **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. *Arch. Biol. Sci., Belgrade* **61** (4): 871–881.
3. **Bulajić, A.**, Stanković, I., Milojević, K., Krstić, B. (2014): *Alternaria petroselini* pathogen of parsley in Serbia. Abstracts of Carrot and other Apiaceae International Symposium, Angers, France, pp. 71.
4. Stanković, I., Milojević, K., Vučurović, A., Nikolić, D., Krstić, B., **Bulajić, A.** (2015): First Report of Fusarium Root Rot of Stored Carrot Caused by *Fusarium avenaceum* in Serbia. *Plant Disease* **99** (2): 286.
5. Vučurović, A., Vučurović, I., Stanković, I., **Bulajić, A.**, Nikolić, D., Teodorović, S., Krstić, B., (2015): First Report of Garlic common latent virus Infecting Garlic in Serbia. *Plant Disease* **99** (6): 894–895.

2. др **Војислав Тркуља**, редовни професор на Пољопривредном факултету Универзитета у Источном Сарајеву, ужа научна област Заштита здравља биљака – Фитопатологија

Референце из области теме докторске дисертације:

1. **Trkulja, V.**, Mihić Salapura, J., Kovačić, D., Stanković, I., Bulajić, A., Vučurović, A., Krstić, B. (2013): First Report of *Iris yellow spot virus* Infecting Onion in Bosnia and Herzegovina. *Plant Disease* **97** (3): 430.
2. **Trkulja, V.**, Mihić Salapura, J., Ćurković, B., Stanković, I., Bulajić, A., Vučurović, A., Krstić, B. (2013): First Report of *Tomato spotted wilt virus* on Gloxinia in Bosnia and Herzegovina. *Plant Disease* **97** (3): 429.
3. **Trkulja, V.**, Stojčić, J., Kovačić, D., Stanković, I., Vučurović, A., Bulajić, A., Krstić, B. (2014): First Report of *Watermelon mosaic virus* in Zucchini Squash in Bosnia and Herzegovina. *Plant Disease* **98**: 573.
4. **Trkulja, V.**, Jošić Kovačić, D., Mihić Salapura, J., Stanković, I., Vučurović, A., Bulajić, A., Krstić, B. (2014): First Report of *Zucchini yellow mosaic virus* in Watermelon in Bosnia and Herzegovina. *Plant Disease* **98**: 858.
5. **Trkulja, V.**, Vasić, J., Vuković, B., Stanković, I., Vučurović, A., Bulajić, A., Krstić, B. (2014): First Report of *Watermelon mosaic virus* Infecting Melon and Watermelon in Bosnia and Herzegovina. *Plant Disease* **98**: 1749.

3. др Горан Перковић, ванредни професор на Пољопривредном факултету Универзитета у Источном Сарајеву, ужа научна област Хортикултура (Повртарство)

Референце из области теме докторске дисертације:

1. **Perković G.**, Govedarica-Lučić A. (2012): Uticaj različitih načina proizvodnje na ranostasnost paprike. XVII Savetovanje o biotehnologiji. Zbornik radova **17 (19)**: 114–119, 6–7, april, 2014. Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet–Čačak.
2. **Перковић Г.**, Говедарица Лучић А., Ђуровка М. (2013): Повртарство. Универзитет у Источном Сарајеву, Пољопривредни факултет, Источно Сарајево.
3. Govedarica-Lučić A., **Perković G.** (2013): Impact of varieties and production methods on yield and content of vitamin C in winter lettuce produced in the greenhouse. Acta Agriculturae Serbica, Vol. XVIII. **35**: 39–47.
4. Kovačević M., Đurić Z., Jović J., **Perković G.**, Lolić B., Hrnčić S., Toševski I., Delić D. (2014): First report of stolbur phyto plasma associated with Maize redness disease of maize in Bosnia and Herzegovina, Plant Disease **98** (3): 418.
5. Govedarica-Lučić A., **Perković G.**, Rahimić A. (2014): Influence of substrate and cell volume of containers on the quality of basil. Fifth International Agricultural Symposium „Agrosym 2014”. Book of Proceedings, ISBN 978–955–751–9–9. pp. 75–78. Jahorina, October 23–26, 2014. Bosna and Herzegovina.