

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број захтева: 277/1-7.10.
Датум: 30.10.2013. године

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на извештај о урађеној докторској дисертацији

Молимо да, сходно члану 46. став 5. тачка 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета" број 131/06), дате сагласност на извештај о урађеној докторској дисертацији кандидата Марије Сарић-Крсмановић, дипл. инж.

Кандидат **Марија (Милан) Сарић-Крсмановић, дипл. инж.**, пријавила је докторску дисертацију под називом: «БИОЛОГИЈА ВИЛИНЕ КОСИЦЕ (*Cuscuta campestris* Yunk.) И МОГУЋНОСТИ ЊЕНОГ СУЗБИЈАЊА».

из научне области Фитомедицина.

Универзитет је дана 19.05.2010. године, својим актом 01 бр. 020-1324/9-10 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: «**БИОЛОГИЈА ВИЛИНЕ КОСИЦЕ (*Cuscuta campestris* Yunk.) И МОГУЋНОСТИ ЊЕНОГ СУЗБИЈАЊА**».

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације Марије Сарић-Крсмановић, дипл. инж., образована је на седници одржаној 29.05.2013. године, одлуком Факултета број 356/8-5.6., у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област

1. др Сава Врбничанин, редовни професор, Хербологија,
2. др Ибрахим Елезовић, редовни професор у пензији, Пестициди,
3. др Бранко Карацић, научни саветник, Фитопатологија,
4. др Љиљана Радивојевић, виши научни сарадник, Хербологија,
5. др Данијела Павловић, научни сарадник, Хербологија.

Наставно-научно веће Пољопривредног факултета прихватило је извештај Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације, на седници одржаној 30.10.2013. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 277/1-7.10.
Датум: 30.10.2013. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 123. Закона о високом образовању и члана 24. Правилника о последипломским студијама и докторату наука, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 30.10.2013. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднела **МАРИЈА САРИЋ-КРСМАНОВИЋ**, дипл. инж. и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: «**БИОЛОГИЈА ВИЛИНЕ КОСИЦЕ (*Cuscuta campestris* Yunk.) И МОГУЋНОСТИ ЊЕНОГ СУЗБИЈАЊА**».

II Универзитет је дана 19.05.2010. године, својим актом 01 број 020-1324/9-10 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у часопису међународног значаја:

Saric, M., Bozic,D., Pavlovic,D., Elezovic,I., Vrbnicanin,S. (2012): Temperature effects on common cocklebur (*Xanthium strumarium* L.) seed germination. Romanian Agricultural Research, 29: 389-393.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору др Сави Врбничанин, редовном професору, Институту за фитомедицину, Студентској служби и архиви.

Предмет: Оцена урађене докторске дисертације Марије М. Сарић-Крсмановић

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, бр. 356/8-5.6. од 29.05.2013.год. именовани смо у Комисију за оцену и одбрану урађене докторске дисертације Марије М. Сарић-Крсмановић под насловом: „**Биологија вилине косице (*Cuscuta campestris* Yunk.) и могућности њеног сузбијања**”. Комисија у саставу: др Сава Врбничанин, ред. проф. Пољопривредног факултета у Београду, др Ибрахим Елезовић, ред. проф. Пољопривредног факултета у Београду у пензији, др Бранко Карацић, научни саветник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ у Београду, др Љиљана Радивојевић, виши научни сарадник Института за пестициде и заштиту животне средине у Београду и др Даније Павловић, научни сарадник Института за заштиту биља и животну средину у Београду, на основу прегледа докторске дисертације подносе следећи

ИЗВЕШТАЈ И ПРЕДЛОГ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Марије Сарић-Крсмановић написана је на 158 страна куцаног текста, нормалног прореда и има 7 поглавља: Увод (стр.1-3), Преглед литературе (стр.4-24) са 7 подналова, Материјал и методе (стр.25-39) са 3 подналова и 10 подналова трећег реда, Резултати (стр.40-98) са 4 подналова и више подналова трећег и четвртог реда, Дискусија (стр.99-114) са 8 подналова, Закључци (стр.115-118) и Литература (стр.119-139). Дисертација садржи 51 график (4 у прилогу), 69 табела (32 у прилогу), 14 слика (11 у прилогу), 259 референци, апстракт на српском и енглеском језику.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Увод

У уводу кандидат указује на присутност паразитских цветница, њиховом ширењу као и штетама које наносе у пољопривреди у свету и код нас. Од приближно 4200 врста у оквиру 274 рода у биљној производњи највеће штете наносе врсте из родова *Cuscuta*, *Arceuthobium*, *Orobancha* и *Striga* (Nickrent, 2002). Род *Cuscuta* (вилине косице), паразити стаблосе исхране, обухвата око 200 врста а у Србији је заступљено 10. Највеће штете вилине косице праве у вишегодишњим легуминозама (луцерка, црвена детерлина), у производњи расада повртарских биљака, у пластеничкој производњи, усеvu шећерне репе, кромпиру, итд. Поред директних штета (Koskela et al., 2001; Fathoulla & Duhoky, 2008) чији крајњи ефекат је потпуно пропадање домаћина (нпр. гајене биљке) врсте рода *Cuscuta* захваљујући свом начину исхране као и широком кругу домаћина на којима паразитирају могу допринети ширењу биљних вируса (Macrone et al., 1999).

Докторант даље наводи да за разлику од осталих коровских врста као васкуларних биљака које се срећу на антропогеним стаништима и које су релативно добро проучене са

таксономског, биолошког, еколошког и донекле анатомско-физиолошко-биохемијског аспекта, паразитске цветнице рода *Cuscuta* су и поред веома великих штета које наносе у пољопривреди слабо проучене. Докторант указује да код нас, осим таксономске класификације која је дата у V тому флоре Србије, затим неколико публикација о општим карактеристикама врста овог рода (Мијатовић и Стојановић, 1968; Стојановић и сар., 1981; Чутурило и Николић, 1986; Штрбац и сар., 1996; Којић и Врбничанин, 2000) и пар публикација које се односе на могућности њиховог сузбијања (Вељковић и сар., 2007) и утицај ризосферних бактерија (PGPR) на клијање семена вилине косице (Сарић и Божић, 2009) нема података о њиховој комплетној биологији, екологији и молекуларној карактеризацији, као и штетама које ова група паразитских цвертница наноси појединим усевама у Србији. Сходно овоме, докторант такође истиче, да нема адекватних решења за њихову контролу и сузбијање у појединим усевама као и изван обрадивих површина.

2.2. Циљ истраживања

Циљ истраживања у овој докторској дисертацији је био да се применом релевантних метода уради прецизна детерминација врста рода *Cuscuta* које паразитирају на гајеним биљкама применом класичних кључева, електронске микроскопије и молекулраних техника.

Такође, циљ истраживања је био је да се уради детаљна морфолошка дескрипција врсте *Cuscuta campestris* применом светлосне и скенинг електронске микроскопије.

Затим, циљ је био да се испита утицај различитих температура (од 5 - 45°C са интервалом од 5°C) и земљишних ризобактерија (род. *Bacillus*, *Azotobacter* и *Pseudomonas*) на клијање семена *C. campestris*.

Циљ је био и да се утврди утицај светлости различитих таласних дужина (црвене, далеко црвене и плаве) на клијање и фототропизме код *C. campestris*, а што би требало да буде у вези и са местом везивања вилине косице за надземни део стабла домаћина.

Циљ је био и да се утврде промене на морфолошком (надземном стаблу и листовима), анатомском (надземном стаблу, листовима и лисним петeljкама) и физиолошком нивоу (садржај и флуоресценција хлорофила, садржај азота, фосфора, клијума, органске и минералне материје) код домаћина луцерке и шећерне репе изазване присуством в.косице.

На крају, циљ је био да се испитају ефикасне и прихватљиве хемијске мере у сузбијању вилине косице у усеву луцерке.

2.3. Преглед литературе

Преглед литературе обухвата седам подпоглавља конципираних на основу референтних извора из области проучавања ове докторске дисертације.

У првом подпоглављу „Морфолошка и молекуларна детерминација и карактеризација врста рода *Cuscuta*“ кандидат указује на сложеност око класификације рода *Cuscuta*. Поједини таксономи род *Cuscuta* сврставају у фамилију Cuscutaceae, док Thorne (2000, 2007), Austin (1998) и таксономи који користе молекуларне технике (García, 2000; Neyland, 2001; Stefanovic & Olmstead, 2004) овај род сврставају у фамилију Convolvulaceae. Међутим, изван број научника сматра да је оправдана припадност рода *Cuscuta* у обе фамилије (Frost et al., 2003, Nickrent, 2005). Поуздана детерминација врста рода *Cuscuta* је знатно сложенија у односу на остале васкуларне биљке јер се ради о незеленим

биљкама, кончастог и цилиндручног стабла, редуковане грађе и веома ситних репродуктивних органа (морфологија цвета, микроморфологија семењаче) на нивоу којих постоје интерспецијске разлике, које могу бити веома варијабилне. До увођења молекуларних техника детерминација се заснивала на примени дихотомних кључева (Yuncker, 1932) и светлосном микроскопу, а у другој половини 20-ог века, коришћење скенинг електронске микроскопије донекле је олакшана ова детерминација. Захваљујући молекуларним техникама прецизна детерминација је умногоме олакшана, па се идентификацију врста рода *Cuscuta* ради на основу ДНК секвенци вишеструких хлоропластних локуса (García, 2001, Stefanović et al., 2007).

У подпоглављу „Клијање семена *C. campestris*“ кандидат објашњава значај животне способности и дормантности семена в.косице за резерве семена у земљишту, а тиме и могућност појаве в.косице на усевама. Дормантност семена је генетичка карактеристика семена, али је и у јакој интеракцији са факторима спољашње средине (Murdoch & Ellis, 1992). Спољашњи фактори (јачина, квалитет и интензитет светлости, фотопериод, ниске и високе температуре) могу утицати на прекид дормантности а тиме и на успешност клијања семена биљака (Bewley & Black, 1994; Honek & Martinkova, 2001). Осим тога, на дормантност семена утичу бројне физиолошке (метаболичке активности ембриона), физичке (семењаче), морфолошке (неразвијен ембрион) карактеристике семена као и њихове комбинације (Baskin & Baskin, 2004). За разлику од холопаразита из рода *Orobanch* или хемипаразита из рода *Striga*, врсте рода *Cuscuta* не захтевају ексудате корена домаћина да би клијале (Benvenuti et al., 2002). Дакле, дормантност и животна способност семена представљају главну стратегију преживљавања, одржавања и ширења в.косоца у фитоценозама.

У делу „Утицај светлости на клијање, раст и везивање клијанаца *C. campestris* за домаћина“ докторант указује да за разлику од фотосинтетских у фотоморфогенетским процесима светлост је носилац информација о променама у спољној средини на основу које биљка усклађује своје покрете, растење и развиће. Мноштво процеса код биљака је под утицајем светлости: клијање семена, тропизми, развој хлоропласта, издуживање, пигментација, активност стома, цветање, итд. (Vierstra, 1993). Пигменти одговорни за процесе морфогенезе су: фитохроми (апсорбују у R и FR делу спектра), криптохроми (апсорбују у В и блиском UV-A спектру), фототропини (апсорбују у В и UV делу спектра) и зеитлупи (апсорбују у В делу спектра). Познато је да биљке према правцу светлости подешавају своје физиолошке и развојне процесе (Whippo & Hangarter, 2006), познате као фототропизам. Клијаци в.косице расту брже у правцу црвене и далеко црвене светлости и тако проналазе домаћина, док далеко црвена и плава светлост су одговорније за формирање апресорија. Haidar (2003) тврди да на увијање стабла *Cuscuta* spp. и формирање прехаусторија утичу подједнако фитохроми и криптохроми.

У делу „Утицај ризосферних бактерија (PGPR - *Planth Growth Promoting Rhizobacteria*) на клијање семена *C. campestris*“ докторант указује да ризосферне бактерија могу стимулирати или инхибирати клијање семена биљака. У литератури се наводе различите врсте и сојеви родова *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Rhizobium* и *Serratia* (Sturz & Nowak, 2000; Sudhakar et al., 2000) са таквим ефектима. Данас се PGPR све више користе за биоконтролу, биофертилизацију и фитостимулацију (Ping & Boland, 2004). На основу овога докторант објашњава да познавање интеракције између PGPR и клијања семена и раста клијанаца може бити од великог значаја у концепту биолошких мера контроле корова.

У делу „Биолошке карактеристике *C. campestris* и остваривање контакта паразит-домаћин“ докторант указује да *C. campestris* као облигатни паразит нема развијен корен већ се хаусторијама причвршћује за стабло домаћина. Хаусторије настају од меристемског ткива стабла паразитске биљке. Развој хаусторија се одвија кроз три фазе (Piehl, 1963): адхезивна, фаза продирања и кондуктивна фаза. Приликом успостављања везе са домаћином долази до излучивања деривата фенола који имају везујућу улогу између оба организма (Vaughn, 2002, 2003). Након успешног заражавања домаћина, маса ткива паразита означена као „унутрашња хаусторија“ продире све дубље у ткиво домаћина формирајући једноћелијске хифе. Хаусторијама тј. хифама паразитска биљка на рачун разлика у водном потенцијалу ћелијског сока усваја воду, органске и минералне материје од домаћина. Сматра се да в.косица из флоема домаћина не добија само органске већ и минералне материје (Hibberd & Jeschke, 2001). В.косица се не качи за домаћина само преко стабла већ за то користи и лист и лисне петелке домаћина (Frost et al., 2003; Fathoulla & Duhoky, 2008). Међутим, присуство физичких (кутикула, восак) и физиолошких баријера код домаћина могу имати велики утицај на начин везивања вилине косице за домаћина.

У делу „Флуоресценција хлорофила као показатељ стреса код биљака на којима паразитира *C. campestris*“ кандидат истиче да мерење флуоресценције хлорофила се може користити као показатељ различитих стресних ефеката на биљке: водни (Duraes et al., 2001), температурни (Francheboud et al., 1999), хербицидни (Korres et al., 2003; Abbaspoor et al., 2006; Војић, 2010) итд. У вези са овим прате се бројни параметри флуоресценције хлорофила: максимална флуоресценција, принс флуоресценције, принос флуоресценције у одсуству актинске светлости, однос варијабилне и максималне флуоресценције, проток електрона, ефективни принос флуоресценције (F_{PSII}), итд. (Maxwell & Johnson, 2000). Из измерених параметара се могу израчунати интензитет и варијабилна флуоресценције као параметри стреса. Такође, докторант указује да физиолошко стање фотосинтетског апарата се види и на основу индукционе криве флуоресценције хлорофила тј. „Kautsky curve“ (Abbaspoor & Streibig, 2005; Abbaspoor et al., 2006).

У седмом подпоглављу „Могућности сузбијања вилине косице“ докторант наводи штете које в.косица прави у различитим усевама. Она је један од најраширенијих паразитских корова у свету и највећим штетама у вишегодишњим легиуминозама које могу бити и преко 50% (Cudney et al., 1992). С обзиром на штете неопходно је примењивати правовремена и ефикасна мере у сузбијању в.косице. У вези са овим докторант указује на превентивне, механичке, физичке, биолошке и хемијске мере. Хемијско сузбијање в.косице је најчешће проучаван метод контроле овог корова (Dawson, 1984, 1987; Parker, 1991; Parker & Riches 1993). Мали број истраживања се односи на примену хербицида пре ницања (пендиметалин, трифлуралин, етофумесат) (Dawson, 1990; Orloff & Cudney, 1987) и по правилу њихова ефикасност је слабија у односу на фолијарну примену. Односно, далеко више истраживања потврђује ефикасно сузбијање в.косице после ницања селективним (имазетапир, римсулфурон) и неселективним хербицидима (примена диквата и параквата у оазама (Cudney & Lanini, 2000) и глифосата (Mishra et al., 2004)).

2.4. Материјал и методе

Поглавље Материјал и методе садржи 3 подпоглавља, где су методе подељене на десет подналова. Истраживања су изведене на Пољопривредном факултету у Београду - у Биолошкој лабораторији и стаклари, Лабораторијама за агрохемију, анатомију, светлосну

микроскопију, скенинг електронску микроскопију и Молекуларној лабораторији у Торонту-Канада (University of Toronto Mississauga, Department of Biology), затим на производним парцелама са зараженом луцерком у Поповићу и Римским Шанчевима у Новом Саду.

2.4.1. Материјал

За детерминацију врста рода *Cuscuta*, као и за испитивање утицаја в.косице на морфо-анатомске и физиолошке промене код биљака домаћина, прикупљен материјал (семе и делови стабла) током 2008/09/10/11 са 23 локалитета је чуван по адекватној процедури до употребе.

Испитиван је утицај *C. campestris* на морфо-анатомске и физиолошке промене код домаћина луцерке (*Medicago sativa* L.) и шећерне репе (*Beta vulgaris* L.) у условима са и без примене хербицида у контролисаним условима. Биљке су гајене у смеши супстрат (Flora Gard TKS1, Germany) + земља (1:1) који је анализиран у односу на основне агрохемијске параметре: рН, садржај органског угљеника (C/N) и хумуса (%), укупни N (%), лакодоступни P₂O₅ (mg/100g), K₂O (mg/100g) и NH₄, NO₃, NH₄+NO₃ (mg/kg). Добијени резултати су потврдили да су биљке у време трајања огледа биле добро снабдеване потребним хранивима. Заражавање биљака в.косицом рађено је паралелно са сетвом домаћина. Након ницања биљке су проређене и у сваком суду остало по 2 биљке ш.репе и 20 биљака луцерке.

За испитивање утицаја *C. campestris* на морфо-анатомске и физиолошке промене код домаћина (луцерке и ш.репе) у контролисаним условима у третманима са хербицидима примењени су: имазетапир (Pivot M 100-E, 1,5 l/ha), пропизамид (Kerb 50-WP, 3 и 4 kg/ha) и глифосат (Glifol, 0,8 и 1 l/ha). За испитивање ефикасности хербицида у сузбијању вилине косице у усеву луцерке у пољским условима поред горе наведених третмана коришћен је и дикват (Reglon forte, 3 l/ha).

2.4.2. Методе

За проучавање **површинских структура семена *C. campestris* и анализу делова цвета** (цветног омотача, тучка, прашника) коришћен је скенинг електронска микроскопија СЕМ (SEM Joel JSM-6390LV). За проучавање морфологије семена в.косице коришћен је светлосни микроскоп LEICA DMLS, и фотографије су рађене камером LEICA DC 300. Дужина и ширина семена су мерени у софтверу LEICA IM 1000.

За молекуларну детерминацију в.косице екстракција ДНК урађена из осушеног биљног материјала по протоколу за DNasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany). Успешност екстракције проверена је електрофорезом. PCR реакција урађена је у лабораторији у Торонту (University of Toronto Mississauga, Department of Biology, Canada). ITS (intergenic spacer) нуклеарне регија rDNK коју чини ITS1, 5, 8S и ITS2 умножена је прајмерима ITS5 и ITS4 (White et al., 1990). Пречишћени производи су секвенционирани употребом DYEnamic ET кита (GE Healthcare, Baie-d'Urfe', Quebec, Canada). Подаци о секвенционираним материјалу су потврђени и депоновани у National Center of Biotechnology Information (NCBI), и додељен им је приступни број: GenBank Accession number: KC569803 (*Cuscuta campestris* Yunk.) и KC569804 (*Cuscuta epithymum* (L.) Nath.).

Утицај везане *C. campestris* за биљке домаћине у третманима са и без примене хербицида су рађени у фази 2-пара листова ш.репе, а луцерка при висини 10-12 cm. **Визуелна оцена (скала 0 - 100%), свежа маса и интензитет озеленелости листова** (СПАД-метром) су мерени 0, 1, 7, 14, 21 и 28 ДНПХ ради оцене реакције домаћина на присуство

в.косице. При свим мерењима су узети узорци за одређивање укупног садржаја хлорофила. Сва мерења су рађена на 2 биљке ш.репе и 10 биљака луцерке по третману. За мерење надземне масе узете су све биљке из саксије. Третмани су рађени у 5 понављања и оглед је поновљен 2 пута.

Садржај хлорофила је одређен применом две методе: хлорофилметријски за утврђивање релативног садржаја хлорофила, и спектрофотометријски за садржај укупног хлорофила, хлорофила *a*, *b* и укупних каротеноида (Lichtenthaler & Wellburn, 1983).

Садржај N, P₂O₅, K₂O, органских и минералних материја код заражених и незаражених биљака домаћина (10 понављања по третману у две репликације) је утврђиван 20-ог и 40-ог дана након заражавања применом методе мокрог спаљивања са H₂SO₄ и смешом H₂SO₄+HClO₄ (1:1), након чега је садржај N одређен дестилационом, P₂O₅ колориметријскиом и K₂O пламенфотометријском методом. Садржај органских и минералних материја је мерен спаљивањем и жарењем на 550°C до константне тежине.

Анализа **анатомске грађе листа и стабла** луцерке је рађена на светлосном микроскопу LEICA DMLS на незараженим и зараженим биљкама *C. campestris* и код заражених биљака третираним хербицидима. Анатомске промене у грађи листа и лисне дршке ш.репе су такође рађене у истим третманима, с тим што је еовде примењиван само 3 и 4 kg/ha Kerb 50-WP. Промене у анатомског грађи вег. органа су мерене 0, 1, 7, 14, 21, и 28 ДНПХ. Код луцерке на 10 тролиски са 3 спрата и на 10 делова стабла (исечак 1 cm) на месту везивања в.косице за домаћина. Код ш.репе на 8 листова и 8 лисних дршки за које се везала в.косица. Анатомски пресеци (5-15 µm) су рађени на микротому LEICA SM 2000 R, и бојени са toluidne blue, safranin и alcijan blue. Код листа су мерени: дебљина епидермиса лица и наличја, мезофил, палисад и сунђерасто ткиво и пречник ћелија омотача проводног снопића; а код стабла: дебљина епидермиса, примарна кора, централни цилиндар и пречник стабла; и код лисне дршке: пречник трахеја и ћелија флоема, површина ксилема и флоема и израчуната хидрауличка проводљивост проводних снопића (HPLD x 10⁻¹⁸) (Tybее & Zimmerm, 1971). Сви параметри су мерени у 30 понављања.

Флуоресценцију хлорофила је мрена флуориметром PAM-2100 (Heinz Walz, GmbH, Effeltrich, Germany) по истом принципу као и код анализе промена у анатомској грађи вегетативних органа домаћина услед присуства *C. campestris*. Мерења су рађена на свака 24 h у трајању од 20 дана. Мерени су: основна флуоресценција (Fo), максимална (Fm), однос варијабилне и максималне флуоресценције (Fv/Fm), проток електрона (ETR) и ефективни принос флуоресценције (Ф_{PSII}). Израчунати су: интензитет (IF = Ft/Fo, где је Ft принос флуоресценције) и варијабилна флуоресценција (Fv = Fm-Fo).

Утицај температура од 5 - 45°C (са интерв. од 5°C) на клијање семена *C. campestris* је рађено у инкубатору (Binder CE) са третманима: семе чувано на собној T (22-25°C), семе 30 дана излагано T = 4°C, семе скарификовано концентрованом H₂SO₄/30 мин. Свакодневно у трајању од 10 дана бројан је број клијалих семена а последњег дана измерена је и дужина клице. Стопа клијања је израчуната по формули Maguire-а (1962).

Утицај светлости на клијање семена и дужину клијанаца *C. campestris* је испитиван на T = 30±1°C у режимима: светлост/мрак 16^h/8^h, 14^h/10^h, светлост 24^h и мрак 24^h. Такође семе *C. campestris* је излагано свакодневно црвеној светлости 15 min и 1^h. За извор беле светлости коришћене су Philiphs fluo sevi (Philiphs master, 36W/865, Poland), а преко пластичних филтера добијана је црвена (R, 600-700 nm) - Color filter CF-106, Primary Red; далеко црвена (FR, 700-800 nm) - Color filter CF-164, Flame Red; и плава светлост (B, 400-500

nm) - Color filter CF-119, Dark Blue, veličine 122 cm x 50 cm x 0,7 cm. Оглед је трајао 7 дана, третмани су рађени у 4 понављања и оглед је поновљен 3 пута.

Утицај светлости на брзину и висину везивања *C. campestris* за луцерку је испитивано при светлосним режимима: бела светлост/црвена светлост/мрак ($10^8\text{S}/1^{\text{h}}\text{R}/13^{\text{h}}\text{M}$), бела светлост/далеко црвена светлост/мрак ($10^8\text{S}/45\text{minFR}/13^{\text{h}}\text{M}$), бела светлост/плава светлост/мрак ($10^8\text{S}/1^{\text{h}}\text{B}/13^{\text{h}}\text{M}$) и контрола бела светлост/мрак ($10^8\text{S}/14^{\text{h}}\text{M}$). Сви третмани су рађени у 4 понављања и оглед је поновљен 3 пута. Таласне дужине светлости су контролисане Luxmeter Spectro Photometer ASP-MK350.

За испитивање **утицаја ризобактерија на клијање семена *C. campestris*** коришћене су бактеријске културе: *Bacillus licheniformis*, *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megatherium* ZP6, *Azotobacter chroococcum* Ps1 и *Pseudomonas fluorescens*. По 20 дезинфикованих семена је стављано у посуде где је додато по 5 ml инокулума (10^8 ml^{-1}) и остављено у инкубатор без светлости на $T = 25^{\circ}\text{C}$. Очитавања су рађена свакодневно 10 дана, третмани су рађени у 4 понављања и оглед је поновљен 2 пута.

За испитивање могућности **хемијског начина сузбијања в.косице у луцерки** огледи су изведени у Поповићу и Римским Шанчевима по случајном блок систему у 4 понављања. Испитивани третмани су приказани у Материјалу извештаја. Ефикасност третмана (%) је утврђена на основу скале EWRC (European Weed Research Council).

Добијени подаци су обрађени у програму STATISTIKA[®]8.0. (StatSoft, Inc. (2007)). Коришћена је ANOVA, т-тест, F-тест и LSD-тест. За оцену најбољих третмана коришћена је PCA анализа (Principal component analysis).

2.5. Резултати

Резултати истраживања обрађени су у 4 подпоглавља, а која понаособ садрже по 4 до 9 наслова трећег реда. Резултати су написани јасно и документовани графицима, табелама и сликама.

Детерминација и карактеризација в.косице применом СЕМ и СМ

Вредности физичких параметара семена (дужина, ширина и маса 1000 семена анализираних помоћу СМ) код 18 популација в.косице, као и изглед површинских структура семењаче и цветних делова (цветног омотача, тучака и прашника анализираних на СЕМ-у) код 23 популације в.косице потврдиле су присутност 2 врсте рода *Cuscuta*: *C. campestris* Yunk. и *C. epithymum* (L.) Nath.

Детерминација и карактеризација в.косице применом молекуларних метода

BLAST анализом (Basic Local Alignment Search Tool) потврђено је да популације в.косице (Cus1 до Cus22 редом, *C. campestris* Yunk.) прикупљене на територији Србије имају максималну нуклеотидну идентичност (100%) са секвенцама које се налазе у GenBank бази података (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). BLAST анализом испитиване секвенце Cus23 (*C. epithymum* (L.) Nath.) установљено је да има од 99-100% нуклеотидну идентичност са секвенцама које се налазе у GenBank бази података. Прорачун генетичке сличности поп. Cus23 (*C. epithymum* (L.) Nath.) са осталим износи 67,6%.

Утицај различитих фактора на клијање семена *Cuscuta campestris*

Утицај температура на клијање *C. campestris* је рађено у температурном опсегу $5 - 45^{\circ}\text{C}$ са интервалима од 5°C и у 3 третмана (T_1 -семе чувано на собној температури, T_2 -семе 30 дана чувано на 4°C , T_3 -семе скарификовано конц. H_2SO_4). Клијање семена је варијало у опсегу од 1,25 - 96,88%, при чему је најбоља клијавост постигнута на 30°C и у односу на третмане се

кретала од 21 (T_1) до 39 (T_2), односно 96,88% (T_3). Статистичка анализа резултата је показала да температура значајно ($p < 0,01$) утиче на клијање и стопу клијања семена.

Утицај светлости на клијање семена *C. campestris*. Проценат клијања семена у свим третманима са белом светлошћу је био већи ($24^hS = 50,61\%$; $14^hS/10^hM = 64,67\%$; $16^hS/8^hM = 68,44\%$) од клијавости у контроли (24^h мрак = $27,50\%$). Такође и дужина клијанаца код свих третмана са белом светлошћу је била већа ($24^hS = 5,84$ cm; $14^hS/10^hM = 7,32$ cm; $16^hS/8^hM = 7,40$ cm) у односу на контролу (5,48 cm). Разлике у клијању семена и дужини клијанаца између светлосних третмана и контроле су биле статистички значајне ($p < 0,01$). Оба третмана црвене светлости су стимулативно деловали на клијање семена *C. campestris* ($15min R = 63,83\%$; $1^h R = 81,61\%$) у односу на контролу (26,39%). Слично је било и са дужином клијанаца и за оба параметра су потврђене значајне разлике ($p < 0,01$) између третмана са R светлошћу и контроле.

Утицај светлости на раст и везивање клинанаца *C. campestris* за стабло луцерке. Четрнаест дана од заснивања огледа највећи број везаних клијанаца в.косице забележен је у третману T_2 ($10^hS/45minFR/13^{15}M$) ~19 на висини 4,65 cm, затим у третману T_3 ($10^hS/1^hB/13^hM$) ~18 на 4,46 cm и потом у третману T_1 ($10^hS/1^hR/13^hM$) ~16 на 4,35 cm. У контроли број везаних клијанаца је био знатно мањи, ~9 на висини 3,78 cm. Разлике између третмана са светлошћу и контроле су биле статистички значајне за оба мерена параметра ($0,01 < p < 0,05$), док разлике између третмана нису биле значајне. Светлосни третмани су утицали и на издуживање стабла луцерке: $T_1 = 19,00$ cm, $T_2 = 17,00$ cm, $T_3 = 19,60$ cm, контрола = 14,12 cm.

Утицај ризобактерија (PGPR) на клијање семена *C. campestris*. Генерално, сви испитивани третмани испољили су инхибиторни ефекат на клијање семена луцерке и ш.репе у односу на контролу. Код луцерке најјача инхибиција је постигнута у култури са *Azotobacter chroococcum* Ps1 и *Pseudomonas fluorescens* (21,64%) а код ш.репе у култури са *B. megatherium* ZP6 (85,71%). Насупрот овоме, третмани MO_4 , MO_6 и MO_2 су показали инхибиторни (66,67%, 33,33% и 27,78%), док третмани са *Bacillus licheniformis*, *B. amyloliquefaciens* и *A. chroococcum* Ps1 стимулативни ефекат (22,22%, 11,11% и 27,78%) на клијање семена в.косице. Стопе клијања под утицајем различитих PGPR код в.косице (1,73 - 6,38) и ш.репе (0,78 - 7,48) су биле знатно ниже у односу на луцерку (29,97 - 41,13).

Утицај *Cuscuta campestris* на биљке домаћина у третманима са и без примене хербицида, оглед у саксијама

Утицај *C. campestris* на морфолошке параметре луцерке и ш.репе. *C. campestris*, у варијанти без примене хербицида је значајно редуковала свежу надземну масу луцерке (0,30 - 1,32 g/биљ. и ш.репе (1,37 - 5,34 g/биљ.). Супротно овоме свежа маса незаражених биљака луцерке се кретала од 0,83 - 2,32 g/биљ., а ш.репе од 2,33 - 5,34 g/биљ. У третману са глифосатом (Glifol 0,8 и 1 l/ha) маса луцерке је била 1,06 и 1,16 g/биљци, нешто нижа у третману са пропизамидом (Kerb 50-WP 3 и 4 kg/ha) и имазетапиром (Pivot M 100 1,5 l/ha). Код ш.репе већа већа маса је измерена при примени 4 kg/ha Kerb-a (3,94 g/биљ.) у односу на нижу примењену дозу. Ефикасност испитиваних третмана у сузбијању в.косице у луцерки се кретала 85 - 97,5% а код ш.репе 85 - 90%.

Утицај *C. campestris* на релативни садржај хлорофила (PCX) и укупни садржај каротеноида (УСК) код луцерке и ш.репе у третманима са и без примене хербицида. Код заражених биљака луцерке у условима са и без примене хербицида PCX је редукован од 5,60 - 17,08%. Смањење УСК је забележен у третманима 0,8 l/ha Glifola (9,19%) и 3 kg/ha Kerba (3,09%), а код осталих третмана је измерен повећан садржај каротеноида ($K_{cus} = 1,40\%$, $G1 = 2,37\%$, $K4 = 7,96\%$ и $P = 5,45\%$). Проценат редукције PCX се значајно разликовао ($p < 0,01$) између

контроле и третмана. Код ш.репе повећан PCX је потврђен код свих третмана: Kcus за 37,45%, код K4 за 25,72% и код K3 за 25,23%. Такође, УСК је био повећан у свим третманима за 9,45 - 32,93%.

Утицај *C. campestris* на садржај азота, фосфора, клијума, органске и минералне материје код луцерке и ш.репе. Четрдесет ДНЗ код луцерке садржај N, P₂O₅, K₂O и органске материје је био већи код заражених него код контролних биљака, док је садржај минералних материја био нижи. Код контролних биљака ш.репе садржај N и органске материје (1,12% и 83,09%) је био нижи у односу на заражене биљке (2,03% и 85,28%), док је садржај P₂O₅, K₂O и минералних материја био нижи у третману (0,48%, 2,84% и 14,72%) у односу на контролу (0,76%, 3,53% и 16,92%).

Утицај *C. campestris* на анатомску грађу стабла и листа луцерке у условима са и без примене хербицида. *C. campestris* је значајно (0,01<p<0,05) утицала на промену анатомске грађе стабла (епидермиса, примарне коре, централног цилиндра и пречника стабла) и листа (епидермиса лица и наличја листа, палисадно и сунђерасто ткиво, мезофил, ћелије омотача проводних снопића) заражених нетретираних биљака луцерке у односу на контролу без в.косице и већину третмана са применом хербицида. PCA анализом је потврђено да су на в.косицу, а уједно и на параметре анатомске грађе стабла и листа луцерке, највећи утицај имала примена 1,5 l/ha Pivot и 1 l/ha Glifola.

Утицај *C. campestris* на анатомску грађу листа и лисне дршке ш.репе у условима са и без примене хербицида. Као и код луцерке и код ш.репе *C. campestris* је значајно (0,01<p<0,05) утицала на промену параметара анатомске грађе листа (епидермиса лица и наличја листа, палисадног и сунђерастог ткива, мезофил, пречник ћелија омотача проводног снопића) и лисне дршке (пречник трахеја, хидрауличку проводљивост снопића, површина ксилема и флоема, пречник ћелија флоема) заражених нетретираних биљака ш.репе у односу на контролу без в.косице и оба третмана (3 и 4 kg/ha Kerb 50-WP). Ова правилност није потврђена само код површине флоема где је утврђена најмања вредност у третману са применом 3 kg/ha Kerb 50-WP. PCA анализом је потврђено да на в.косицу, а уједно и на мерене параметре анатомске грађе листа и лисне дршке ш.репе највећи утицај је имала примена веће дозе пропизамида (третман K4).

Утицај *Cuscuta campestris* на флуоресценцију хлорофила код луцерке и ш.репе
Током 20 дана трајања огледа Fo, Fv и IF су се показали као осетљивији показатељи на стрес код биљака домаћина изазван *C. campestris* у односу на Fv/Fm и Ф_{PSII}. Вредности Fo код заражених биљака луцерке и ш.репе су генерално биле веће у односу на незаражене биљке, док су Fv и IF вредности имале обрнут тренд, осим IF код ког није постојала правилност раста или опадања ове вредности код заражених биљака ш.репе док су у контроли оне биле мање-више постојане. С друге стране, вредности Fv/Fm и Ф_{PSII} код заражених биљака луцерке су биле у нивоу контроле или ниже.

Сузбијање в. косице хербицидима у пољу

Ефикасност примењених третмана у луцерки на л. Поповићи, где је зараженост усева била 100% и где није претходно рађено кошење па примена хербицида, у обе оцене најбољи ефекат (100%) у сузбијању в.косице је дао третман са 3 l/ha Reglon forte (дикват). Ефикасност осталих третмана била је по следећем редоследу: 1 l/ha Glifol > 0,8 l/ha Glifol > 4 kg/ha Kerb 50-WP > 1,5 l/ha Pivot M 100 > 3 kg/ha Kerb 50-WP.

На л. Римски шанчеви присутност в.косице у луцерки пре кошења се кретала од 20-50% и усев није био велике густине. Примена хербицида је рађена после кошења и ефикасност свих

третмана је била висока: 100% код примене 3 l/ha Reglon forte и 1,5 l/ha Pivot M 100, док је ефикасност осталих третмана била 99%. Међутим, и у контроли после кошења присутност в.косице је била незнатна, 2% (ефекат кошења, високих температура и суше).

2.6. Дискусија

У овом поглављу (са 8 подпоглавља) аутор детаљно дискутује сопствене резултате и упоређује их са резултатима других аутора који су радили на сличним истраживањима.

Морфолошка и молекуларна детерминација и карактеризација врста рода *Cuscuta*
Добијене вредности за физичке параметаре семена (дужина, ширина и маса 1000 семена) и микроструктуре семењаче и цветних делова (тучака и прашника), као и молекуларна детерминација су потврдиле да од 23 анализираних популације в.косица 22 по свим мереним параметрима одговарају врсти *C. campestris* Yunk., а једна поп. врсти *C. epithymum* (L.) Nath. Вредности анализираних параметара кореспондирају са резултатима Costea & Tardif (2006), Fathoulla & Duhoky (2008), Stefanovic et al. (2007), Garcia & Cafferty (2005) итд. који су радили на детерминацији в.косица.

Утицај температуре на клијање семена *C. campestris*

Резултати који се односе на клијање семенa в.косице указују да температуре у распону од 5 - 45°C (са интервалом од 5°C) веома значајно ($p < 0,01$) утичу на клијање семена *C. campestris* у сваком од испитиваних третмана (T_1 - семена чувана на собној $T = 22-25^\circ\text{C}$; T_2 - семена претходно излагана 30 дана $T = 4^\circ\text{C}$; T_3 - семена скарификована концентрованом H_2SO_4). Оптимална T за клијање у свим третманима је била 30°C ($T_1 = 20,63\%$, $T_2 = 38,75\%$, $T_3 = 96,88\%$), док на температурама 5°C и 45°C семе није клијало. Слично овоме Benvenuti et al. (2005) су добили клијавост скарификованог семена *C. campestris* између 60 - 80%, док је проценат клијања нескарификованог семена био знатно нижи (20%). Слично овим резултатима Meulbrouck et al. (2008) су потврдили за *C. epithymum* боље клија када се претходно излаже нижим T (5°C у трајању од 2 недеље). Такође, клијанци су били најдужи при $T = 30^\circ\text{C}$ у третману са скарификованим семеном ($T_3 = 9,08\text{ cm}$; $T_2 = 6,29\text{ cm}$; $T_1 = 4,99\text{ cm}$).

Утицај светлости на клијање семена, раст и везивање клијанаца *C. campestris* за стабло луцерке

Велики број истраживача је потврдио да квалитет и дужина трајања светлости имају велики утицај на формирање хаусторија и увијање стабла паразита око биљке домаћина (Lane & Kasperbauer, 1965; Haidar, 2003) што је потврђено и у овој тези. Проценат везаних клијанаца *C. campestris* за стабло домаћина седам дана од заснивања огледа након излагања R светлости је био 26,67%, односно при излагању FR 30% и B 23,34%, док је у контроли било 16,67%. Чињеница да за успостављање везе в.косица-домаћин није неопходан хемијски сигнал, већ да је главни стимуланс светлост (Tada et al., 1996) и овде је потврђено да различити светлосни третмани поред утицаја на клијање и везивање клијанаца могу утицати и на висину њиховог везивања за домаћина ($FR = 4,65\text{ cm}$; $B = 4,46\text{ cm}$; $R = 4,35$; контрола = $3,78\text{ cm}$).

Утицај ризобактерија (PGPR) на клијање семена *C. campestris*

Сагласно резултатима претходних истраживања (Carrillo-Castañeda et al., 2002; Ryu et al., 2003; Vrbnicanin et al., 2008) и овде суспензија бактеријских култура *B. licheniformis* и *B. amyloliquefaciens* су испољили стимулативни ефекат на клијање семена *C. campestris*. Међутим, насупрот претходним истраживањима бактеријске културе *B. pumilus*, *B.*

megatherium ZP6 и *Pseudomonas fluorescens* су инхибирале клијање семена *C. campestris*. Такође, супротно претходним истраживањима *A. chroococcum* је инхибиторно деловао на клијање луцерке и ш.репе. Опречни резултати се могу објаснити теоријом коју заступа Rueda-Puente et al. (2007) да деловање PGPR на клијање семена и раст клијанаца зависи и од других фактора као што су салинитет, температура, влажност итд.

Утицај *C. campestris* на морфолошке параметре луцерке и ш.репе

На редукцију свеже масе (g/биљ.) надземног дела стабла луцерке и ш.репе највећи утицај имала је *C. campestris* у контролоном третману са зараженим биљкама (луцерка: 0,30 - 1,32 g/биљ.; ш.репа: 1,37 - 3,34 g/биљ.), док је у контроли без присуства паразита свежа маса имала изражен тренд раста (луцерка: 0,33 - 2,32 g/биљ.; ш.репа: 2,33 - 5,34 g/биљ.). Ово кореспондира са резултатима Liao et al. (2002) и Zan et al. (2003) где је потврђено да *C. campestris*, *C. chinensis* и *C. australis* значајно редукују раст и масу домаћина. Вредности свеже масе у третманима са применом хербицида код луцерке и ш.репе су биле веће, односно значајно су се разликовале ($p < 0,01$) у односу на третман Ксус (заражену контролу). Shen et al. (2005) су такође установили да *C. campestris* редукује стопу укупне суве масе по дану код *Mikania micrantha*.

Утицај *C. campestris* на физиолошке параметре биљака луцерке и ш.репе

Резултати који се односе на релативни садржај хлорофила и садржај каротеноида показују да код луцерке како у контроли са в.косицом, тако и у третманима са применом хербицида долази до редукције PCX, а редукција СК је забележена само у третманима 0,8 l/ha Glifol и 3 kg/ha Kerb 50-WP. Насупрот овоме, у контроли са в.косицом и осталим хербицидним третманима утврђен је повећан СК у односу на контролу без в.косице. Такође, код ш.репе је забележен повећан садржај PCX и СК у односу на контролу без в.косице.

Претходне студије (Jeschke et al., 1994; Jeschke & Hilpert, 1997) су показале да паразитске цветнице као што су врсте рода *Cuscuta* могу услед разлика у водном потенцијалу да преусмере ток биљних асимилатива ка себи. Сагласно овоме, садржај P_2O_5 , K_2O и минералних материја код заражених биљака луцерке, а P_2O_5 , K_2O и органске материје код ш.репе 20 ДНЗ је био већи него код незаражених биљака. Акумулација биљних асимилата код заражених биљака се објашњава и убрзавањем метаболизма код домаћина као одбрамбени механизам услед стреса тј. присуства паразита.

У тези је потврђено да *C. campestris* утиче на промену флуоресценције хлорофила код домаћина. Стресно деловање *C. campestris* на биљке луцерке и ш.репе резултирало је смањењем вредности Fv, Fv/Fm, Φ_{PSII} и IF, што је сагласно резултатима других истраживача (Duraes et al., 2002; Abbaspoor et al., 2006) који су потврдили смањење вредности ових параметара код биљака изложених стресовима (високе концентрације соли, хербициди итд.). Супротно овоме, F_0 вредност код биљака домаћина је била већа код заражених у односу на незаражене биљке луцерке и ш.репе, што је у сагласности са резултатима стресног деловања хербицида (имазамокса и трибенурон-метила) на биљке сунцокрета (Воџић, 2010).

Утицај *C. campestris* на анатомске параметре стабла и листа луцерке, и листа и лисне дршке ш.репе

У тези је потврђено да в.косица значајно утиче на већину анализираних параметара анатомске грађе стабла, листа и лисне дршке биљака домаћина. У третманима са применом хербицида углавном код свих параметара, мерених на месту везивања паразита за домаћина, су вредности биле веће у односу на контролу са в.косицом. Такође PCA анализом је потврђено да су хербицидни третмани имали највећи утицај на дебљину епидермиса стабла (ЕС), пречник централног цилиндра (ЦЦС) и проводног снопића стабла (ПС). Супротно

овоме, на делу стабла изнад места везивања в.косице за домаћина утицај паразита је био већи на примарну кору стабла (ПКС), а потом на пречник ЦЦС и ПС, док су промене биле најмање у дебљини ЕС. У третману са хербицидима највеће промене су биле у третманима 1,5 l/ha Pivot М 100 и 1 l/ha Glifol на месту везивања паразита за домаћина, док је на делу стабла изнад места везивања највећи утицај имао третман 4 kg/ha Kerb 50-WP.

Такође, *C. campestris* је значајно утицала на већину мерених параметара листа домаћина, при чему су се пречник ћелија омотача проводног снопића и епидермис наличја листа издвојили као мање осетљиви у односу на остале анатомске параметре листа. РСА анализом је потврђено да су код листа луцерке третмани са глифосатом и имазетапиром имали већи ефекат на в.косицу, односно листови луцерке из тих третмана су се најмање разликовали у анатомској грађи у односу на незаражене биљке домаћина. Слично овоме је потврђено и у третману 4 kg/ha Kerb 50-WP на листове ш.репе. У раним фазама заражавања в.косицом, домаћин реагује са специфичном експресијом гена укључујући отпуштање Са, издуживање ћелија и промене у ћелијском зиду (Werner et al., 2001; Albert et al., 2004). Кад се формирају хифе захваљујући прстенастој структури оне могу бити повезане са више ситастих цеви у исто време и тиме имају јачу апсорпциону моћ (Dörr, 1987; Dawson et al., 1994), као и утицај на проводне судове домаћина, што је потврђено и у овој тези.

Могућност хемијског начина сузбијања *C. campestris*

Кад се упореде резултати ефикасности испитиваних хербицида (1,5 l/ha Pivot М 100-Е; 3 и 4 kg/ha Kerb 50-WP; 0,8 и 1 l/ha Glifol) у сузбијању в.косице, може се уочити да је на локалитету Р.Шанчеви остварена далеко боља ефикасност у поређењу са локалитетом Поповићи, уз истовремено смањење присуства в.косице како у третману тако и у контроли. Овако опречни резултати се могу довести у везу са знатно мањом присутности в.косице на Р.Шанчевима, што је вероватно последица кошења усева пре примене хербицида. Уколико би се давала препорука за сузбијање в.косице у пракси, оне би могле бити базиране на резултатима који су добијени на локалитету Поповићи. Због веома суженог избора хербицида за сузбијање в.косице у луцерки, често се прибегава примени диквата (3 l/ha Reglon forte) који је испољио најбољу ефикасност на оба локалитета. Међутим, дикват је поред високе ефикасности испољио и високу фитотоксичност на усев луцерке. Стога, сматра се да најуспешнија контрола в.косице у луцериштима подразумева системски приступ интегралне заштите.

2.7. Закључак

-На основу добијених резултата и њиховог разматрања докторант је потврдила присуство 2 врсте рода *Cuscuta*: *C. campestris* Yunk. и *C. epithymum* (L.) Nath. у 23 анализиране популације в.косица.

-Најбоља клијавост семена *C. campestris* се постиже на 30°C уз претходну скарификацију.

-Третмани са белом (24^h S; 16^h S/8^h M; 14^h S/10^h M) и црвеном светлошћу (15 min R/1^h R у току дана) имају стимулативни ефекат на клијање семена и раст клијанаца *C. campestris* у односу на контролу (24^h M).

-Црвене (R, 600-700 nm), далеко црвена (FR, 700-800 nm) и плава светлост (B, 400-500 nm) су имале стимулативан ефекат на раст и висину везивања в.косице за стабло домаћина.

-Суспензије бактеријских култура *Bacillus licheniformis*, *B. amyloliquefaciens* и *Azotobacter chroococcum* Ps1 су стимулисале клијање *C. campestris*, док су *B. pumilus*, *B. megatherium* ZP6 и *Pseudomonas fluorescens* инхибирале клијање в.косице. Све бактеријске културе су инхибирале клијање луцерке и ш.репе.

-Примењени хербициди (глифосат, имазетапир и пропизамид) су утицали на смањење свеже масе луцерке и ш.репе. Највећа маса луцерке је добијена у третману 1 и 0,8 l/ha Glifola, а код ш.репе при примени 4 kg/ha Kerb 50-WP.

-*C. campestris* је утицала на редукцију релативног садржаја хлорофила (PCX) код заражених биљака луцерке у третману са и без примене хербицида, као и садржај каротеноида (СК) у третману са нижим дозама глифосата и пропизамида. *C. campestris* је утицала на повећан PCX и СК код ш.репе у свим третманима са и без примене хербицида у односу на незаражене биљке.

-Повећан садржај N, P₂O₅, K₂O и органске материје је забележен код заражених биљака луцерке, а код ш.репе повећан садржај N и органске материје у односу на незаражене биљке.

-*C. campestris* је значајно утицала на промене параметара анатомске грађе стабла, листа и лисне дршке луцерке и ш.репе. Већа доза глифосата и имазетапира су изазвали највеће промене у анатомској грађи стабла и листа луцерке, а већа доза пропизамида код ш.репе.

-Параметри флуоресценције (Fv, Fv/Fm, Ф_{PSI}, IF, Fo) су се показали као поуздани индикатори на стрес код луцерке услед присуства в.косице.

-Препарат Reglon forte (3 l/ha) је испољио најбољу ефикасност у сузбијању в.косице у луцерки, али процена ефикасности се мора доводити у везу и са интензитетом заразе.

2.8. Литература

Кандидат је цитирала укупно 259 референци међу којима и 2 сопствене из ове области.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација Марије Сарић-Крсмановић представља оригиналан научни рад. Допринос ове дисертације огледа се у молекуларној детерминацији и морфо-анатомској карактеризацији вилине косице, први пут изведених код нас, и сазнању да је *Cuscuta campestris* Yunk. од укупно 10 врста најчешће присутна паразитска цветница у усевима у Србији. Дисертацијом се дошло до сазнања да се *C. campestris* одликује: израженим адаптивним способностима клијања (клија у распону од 10 - 35°C са максимумом на 30°C, 96,9%), способношћу везивања за домаћина при различитим светлосним режимима (проценат везаних клијанаца: $10^hS/45minFR/13^{15}M = 63,3\% > 10^hS/1^hB/13^hM = 56,6\% > 10^hS/1^hR/13^hM = 53,3\% > \text{контрола} = 30,0\%$), значајно инхибира продукцију свеже масе домаћина (36-50%), утиче на промене анатомске грађе (промене на листу, лисној дршци и л.петелци) и садржај биљних пигмената (луцерке: смањење PCX 17,1% и повећање СК 1,4%; ш.репе: смањење PCX 37,4% и повећање СК 32,9%), утиче на акумулацију N, P₂O₅, K₂O, органских и минералних материја код домаћина. Први пут у науци преко параметара флуоресценције хлорофила (Fv, Fv/Fm, Ф_{PSI}, IF, Fo) потврђене су реакције стреса на домаћину услед паразитизма *C. campestris*. Осим тога, по први пут у свету и код нас у *in vitro* условима утврђени су стимулативни ефекти ризобактерија (PGPR) *Bacillus licheniformis* (22,2%), *B. amyloliquefaciens* (11,1%) и *Azotobacter chroococcum* Ps1 (27,8%) на клијање семена *C. campestris*, односно инхибиторни ефекти *B. pumilus* (27,8%), *B. megatherium* ZP6 (66,7%) и *Pseudomonas fluorescens* (33,3%) што указује на могућности њихове употребе у биолошком сузбијању в.косице. Са становишта хемијског сузбијања најбоља ефикасност је постигнута применом препарата на бази диквата (100%) и глифоса (85-99%). Иако глифосат није регистрован за ове намене у нашој земљи може се препоручити за контролу вилине косице у луцеришима.

Примењујући одговарајуће методе и технике, Марије Сарић-Крсмановић је у оквиру постављеног циља и програма рада, веома успешно извела експериментални део истраживања, што је документовала у резултатима дисертације и прилозима. Дискусија резултата представља тумачења која су научно заснована уз поређења сопствених резултата са резултатима до којих су, у сличним или релевантним истраживањима, дошли други истраживачи. Закључци су добро изведени и у сагласности са добијеним резултатима и коректно су дискутовани.

Дисертација је писана јасним језиком и прегледно, а технички је добро организована.

Оцењујемо да ова дисертација представља заокружену целину испитивања биологије, екологије и хемијског начина сузбијања вилине косице у усеву луцерке где она прави и највеће штете у биљној производњи, о чему у нашој земљи нема довољно података.

Сматрамо да је проблематика коју је Марије Сарић-Крсмановић одабрала за свој рад, експериментално обрадила и детаљно анализирали, веома значајна, а добијени резултати и њихово тумачење представљају значајан допринос науци и пракси.

Имајући све ово у виду, предлагемо Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да усвоји позитивну оцену докторске дисертације Марије Сарић-Крсмановић под насловом: **„Биологија вилине косице (*Cuscuta campestris* Yunk.) и могућности њеног сузбијања“** и позове кандидата да је јавно брани.

Београд-Земун
6. 06. 2013. год.

Чланови комисије:

др Сава Врбничанин, редовни професор
Пољопривредног факултета Универзитета у Београду,
(Хербологија)

др Ибрахим Елезовић, редовни професор у пензији,
Пољопривредног факултета Универзитета у Београду,
(Фитофармација)

др Бранко Карацић, научни саветник
Института за биолошка истраживања „Синиша
Станковић“, Београд, (Фитоекологија)

др Љиљана Радивојевић, виши научни сарадник
Института за пестициде и заштиту животне средине,
Београд, (Фитофармација)

др Данијела Павловић, научни сарадник
Института за заштиту биља и животну средину,
Београд, (Хербологија)

ПРИЛОГ

Радови објављени у часописима који су на SCI листи:

Saric,M., Bozic,D., Pavlovic,D., Elezovic,I., Vrbnicanin,S. (2012): Temperature effects on common cocklebur (*Xanthium strumarium* L.) seed germination. Romanian Agricultural Research, 29: 389-393.

Bozic,D., **Saric,M.**, Malidza,G., Ritz,C., Vrbnicanin,S. (2012): Resistance of sunflower hybrids to imazamox and tribenuron-methyl. Crop Protection, 39: 1-10.