

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Број захтева: 461/3-4.2.

Датум: 21.12.2016.

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

**за давање сагласности на предлог теме докторске дисертације
за кандидата на докторским студијама**

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11-пречишћени текст, 167/12 и 172/13), дате сагласност на предлог теме докторске дисертације:

„Хибридне форме дивљег сунцокрета *Helianthus annuus* L.: распрострањеност, варијабилност и реакција на хербициде ALS инхибиторе“.

Научна област: Фитомедицина

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

ДАРКО (Златко) СТОЈИЋЕВИЋ

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

Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет

Одсек Заштита биља и прехранбених производа

3. Година дипломирања:

2011. година

4. Година уписа на докторске студије:

2011/2012.

5. Назив студијског програма докторских студија:

Пољопривредне науке, модул Фитомедицина

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

Име и презиме ментора: **Сава Врбничанин**

Звање: **редовни професор**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Elezovic, I., Datta, A., **Vrbnicanin, S.**, Glamoclija, Dj., Simic, M., Malidza, G., Knezevic, S. (2012): Yield and yield components of imidazolinone-resistant sunflower (*Helianthus annuus* L.) are influenced by pre-emergence herbicide and time of post-emergence weed removal. Field Crop Research 128: 137-146.
2. 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.
3. **Vrbnicanin, S.**, Kresovic, M., Bozic, D., Simic, A., Maletic, R., Uludag, A. (2012): The effects of ryegrass stand densities on its competitive interaction with cleavers (*Galium aparine* L.). Turkish Journal of Agriculture and Forestry 36: 121-131
4. Šilc, U., Lososová, Z., **Vrbničanin, S.** (2014): Weeds shift from generalist to specialist: narrowing of ecological niches along north-south gradient. Preslia 86: 35-46.
5. Bozic, D., Pavlovic, D., Bregola, V., Di Loreto, A., Bosi, S., **Vrbnicanin, S.** (2015): Gene Flow from Herbicide-Resistant Sunflower Hybrids to Weedy Sunflower. Journal of Plant Diseases and Protection 122(4): 183–188.

У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техничко-технолошких, природно-математичких и медицинских наука ментор треба да има најмање пет радова са SCI, SSCI, AHCI или SCIE листе, као и Math-Net.Ru лист

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће Пољопривредног факултета на седници одржаној 21.12.2016. године размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације, јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 461/З-4.2.
Датум: 21.12.2016. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу Закона о високом образовању, члана 34. став 2. Правилника о правилима академских студија другог и трећег степена и члана 44. став 15. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће факултета на седници одржаној 21.12.2016. године, донело је

О Д Л У К У

ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени пријаве теме докторске дисертације коју је поднео **ДАРКО СТОЈИЋЕВИЋ, дипл. инж.** и одобрава израда дисертације по добијању сагласности од Универзитета под насловом: **«ХИБРИДНЕ ФОРМЕ ДИВЉЕГ СУНЦОКРЕТА *Helianthus annuus* L.: РАСПРОСТРАЊЕНОСТ, ВАРИЈАБИЛНОСТ И РЕАКЦИЈА НА ХЕРБИЦИДЕ ALS ИНХИБИТОРЕ».**

За ментора се именује др Сава Врбничанин, редовни професор.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

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

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

Датум: 24.11.2016. године

БЕОГРАД-ЗЕМУН

Предмет: Извештај Комисије о оцени пријаве докторске дисертације Дарка Стојићевића, дипл. инж.

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду бр: 461/1-4.2. од 26. 10. 2016. године именовани смо у Комисију за оцену пријаве докторске дисертације Дарка Стојићевића, дипл. инж., под насловом "Хибридне форме дивљег сунцокрета *Helianthus annuus* L.: распрострањеност, варијабилност и реакција на хербициде ALS инхибиторе". Комисија у саставу др Сава Врбничанин, редовни професор, др Драгана Божић, ванр.проф. и др Драгана Миладиновић, научни саветник Института за ратарство и повртарство у Новом Саду, после разматрања пријаве кандидата, узимајући у обзир све релевантне чињенице од значаја за пријаву израде ове докторске дисертације, подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Назив дисертације

Кандидат Дарко Стојићевић, дипл. инж., је поднео пријаву за израду докторске дисертације под насловом „Хибридне форме дивљег сунцокрета *Helianthus annuus* L.: распрострањеност, варијабилност и реакција на хербициде ALS инхибиторе“

2. Предмет и програм истраживања

У образложењу теме докторант указује на морфолошко-генетичку сродност хибридних форми дивљег и гајеног сунцокрета *Helianthus annuus* L. при чему су хибридне форме дивљег сунцокрета у инвазији и праве велике штете у ратарској производњи на подручју Србије као и другим деловима света где се сунцокрет интензивно гаји. Хибридне форме дивљег сунцокрета *H. annuus* од гајених хибрида се разликују по: (1) висини, (2) израженој гранатости, (3) морфолошкој варијабилности листова, (4) присутности антоцијана у појединим органима, (5) облику, величини и обојености цветног диска (главица), (6) броју главица, (7) димензијама, облику и боји језичастих цветова, (8) релативно малим и разнолико обојеним ахенијама са или без маља, (9) израженом дормантношћу ахенија (семена), (10) ломљивошћу ахенија итд. За разлику од гајених хибрида, хибридне форме дивљег сунцокрета на биљци образују велики број ситних главица (> 50) у пречнику од 2-8 cm, а продукција семена по биљци

у зависности од многобројних фактора се креће од 2000-30000 ахенија (Врбничанин и сар., 2010, 2014). Јовичић и сар. (2011) су утврдили да је оптимална температура клијања семена код дивљих врста рода *Helianthus* 25°C при чему се постиже максимална клијавост од 7-10%. Узимајући наведено у обзир, а полазећи од чињенице да су ахеније у земљишту често храна артроподама, затим да их колонизирају фитопатогени организми, као и да се обрадом земљишта редукује њихова клијавост, у наредној вегетацији се може очекивати да ће клијати свега 2-3% ахенија. Међутим, Врбничанин и сар. (2014) су указали да ће број исклијалих биљака хибридних форми дивљег сунцокрета у наредној вегетацији и даље бити висок због велике количине семена коју расте свака биљка и да то може значајно утицати на принос усева у ком се ове форме сунцокрета као коров појаве.

Гајени и дивљи сунцокрет су репродуктивно компатибилни и у вези са тим Ureta et al. (2008) су потврдили да се могу лако укрштати када расту у близини. На нашим просторима, хибридне форме дивљег сунцокрета су у инвазији (Saulic et al., 2013; Врбничанин и сар., 2014, 2016) и највеће популације су присутне на подручју средњег и јужног Баната, Бачке, јужног Срема и у околини Београда. Између форми овог сунцокрета је веома изражена интра и интер популациона варијабилност.

Ове коровске биљке са запуштених или необрадивих површина и рубова парцела често продиру у окопавинске усеве (кукуруз, соја, шећерна репа, сунцокрет) и доводе до значајних губитака у приносу. Због изразито моћног хабитуса хибридне форме дивљег сунцокрета када се нађу у окопавинама показују изразиту компетитивност за животни простор и природне ресурсе потискујући усеви и друге присутне коровске врсте. С обзиром на тенденцију повећања бројности ових коровских биљака, компетитивни притисак расте што представља јасан показатељ њихове инвазивности и потенцијалне штетности (Станковић-Калезић et al., 2007). Осим физичке (животни простор) и физиолошке (природне ресурсе, превасходно светлост) компетитивности, коровски сунцокрет може утицати на квалитет усева, јер дивље форме садрже мање од 270 g kg⁻¹ уља (Presotto et al., 2011). У претходним истраживањима потврђено је да хибридне форме дивљег сунцокрета могу умањити принос усева кукуруза 40-64% (Deines et al., 2004), соје 17-19%, шећерне репе 28-31% и 5-33% код озиме пшенице (Novak, 2009). Тако нпр. у Шпанији и Француској је око 15% површина гајеног сунцокрета закоровљено коровским сунцокретом, а на веома закоровљеним парцелама губици приноса се крећу и до 50% (Muller et al., 2009). Осим тога, у Италији Vischi et al. (2006) наводе да дивље форме сунцокрета *H. annuus* значајно умањују принос парадајза, дувана и луцерке.

Увођењем у производњу хибрида сунцокрета толерантних на хербициде ALS инхибиторе ствара се потенцијални ризик од трансфера гена са усева у хибридне форме дивљег сунцокрета и добијања резистентних коровских популација. Сунцокрет резистентан према имидазолинонима регистрован је први пут 1996. године на подручју САД након седмогодишње узастопне примене имазетапира у усеви соје (Al-Khatib et al., 1998), што је с једне стране, подстакло је интересовање оплемењивача сунцокрета и произвођача хербицида за могућност коришћења овог својства у циљу унапређења сузбијања корова у овом усеви, с друге стране (Lileboe, 1997). Прва укрштања резистентне популације дивљег сунцокрета са гајеним обављена су 1997. године, а

потом тестирана реакција добијених хибрида према имазетапиру и имазамоксу (Miller and Al-Khatib, 2000). Према истраживањима Al-Khatib et al. (1998), дивљи сунцокрет из Канзаса поседује 210 пута већу отпорност кључног ензима *ALS* према имазетапиру у односу на осетљив генотип. Код нас је стварање хибрида сунцокрета толерантних на *ALS* инхибиторе започето 2001. године (Јоцић и сар.) у Институту за ратарство и повртарство у Новом Саду. Резистентност је базирана променом осетљивости примарног места деловања имидазолинона (хербициди *ALS* инхибитори). Због тога што је сунцокрет странооплодна биљка он дуго није био објекат интересовања за оплемењиваче по питању толерантности према појединим хербицидима, као што је то био случај код других биљних врста. Главни разлози овоме су ризици од трансфера гена (и гена одговорног за резистентност/толерантност на хербициде) у дивље сроднике и проблем самониког сунцокрета у другим усевама.

Могућност трансфера гена одговорног за резистентност сунцокрета према хербицидима у дивљи сунцокрет потврдили су Massinga et al. (2003), Pressotto et al. (2012), Ureta et al. (2008), Arias and Rieseberg (1994), Gutierrez et al. (2010) и други.

Увођењем тзв. „Clearfiled“ технологије, односно гајењем толерантних хибрида сунцокрета (дозвољено гајење ових усева у Европи и у нашој земљи) на имазетапир, имазамокс и трибенурон-метил и чињенице да постоји могућност трансфера гена одговорног за ту појаву, са толерантних хибрида сунцокрета на самоникли усев и хибридне форме дивљег сунцокрета *H. annuus* постоји могућност развоја резистентности па те биотипове нећемо моћи ефикасно сузбијати хербицидима уз групе имидазолинона и сулфониуре у наредним усевама.

Полазећи од научне, стручне и економске значајности ове проблематике у овој докторској дисертацији ће се са различитих аспеката проучавати:

- распрострањеност хибридних форми дивљег сунцокрета *H. annuus*;
- популациона (морфолошка и генетичка) варијабилност хибридних форми дивљег сунцокрета;
- трансфер гена толерантности на хербициде (*AHSA*) из групе сулфониуреа и имидазолинона са толерантних хибрида сунцокрета на осетљиви, самоникли и хибридне форме дивљег сунцокрета *H. annuus*;
- осетљивост на хербициде *ALS* инхибиторе *F1* потомства самониклог, осетљивог и хибридних форми дивљег сунцокрета *H. annuus* за које се претпоставља да су се укрестили са хибридама сунцокрета толерантним на ове хербициде.

3. Научни циљ истраживања

Основни циљеви истраживања у овој докторској дисертацији су да се проучи и утврди:

- распрострањеност хибридних форми дивљег сунцокрета *H. annuus* на територији Републике Србије;
- проучи популациона (интра и интер) варијабилност на морфолошком и генетичком нивоу;

- у пољским условима прати да ли долази до трансфера гена одговорног за резистентност (*AHAS*) на хербициде *ALS* инхибиторе са толерантних хибрида на осетљиви хибрид, самоникли усев и хибридне форме дивљег сунцокрета *H. annuus*;
- да се тестира осетљивост на хербициде *ALS* инхибиторе *F1* потомство самониклог, осетљивог и хибридних форми дивљег сунцокрета *H. annuus* за које се претпоставља да су се укрстили са хибридима сунцокрета толерантним на ове хербициде.

4. Основне хипотезе од којих се полази

На основу претходних истраживања пошло се од претпоставки да:

- су популације хибридних форми дивљег сунцокрета *H. annuus* све присутније, како на обрадивим тако и на необрадивим површинама, нарочито на подручјима интензивне производње сунцокрета у Србији;
- је код сунцокрета као странооплодне биљке присутна интра и интерпопулациона фенотипска и генотипска варијабилност што нарочито долази до изражаја код хибридних форми дивљег сунцокрета *H. annuus* услед интензивне хибридизације;
- учесталијим гајењем хибрида сунцокрета толерантних на хербициде *ALS* инхибиторе (а.с. имазамокс и трибенурон-метил) постоји реалан ризик од трансфера гена (*AHAS*) одговорног за толерантност на хибридне форме дивљег сунцокрета *H. annuus*, као и опасност од самониклих биљака усева које се јављају као корови након гајења толерантних хибрида;
- последњих година све учесталије пољопривредни произвођачи имају евидентне проблеме у сузбијању хибридних форми дивљег сунцокрета јер преживљавају примену препоручених доза хербицида *ALS* инхибитора у различитим усевама;
- популације хибридних форми дивљег сунцокрета *H. annuus*, које преживе примену хербицида као и услед високог конкуритивног капацитета (висина, гранатост, велика продукција главица и ахенија по биљци) су у инвазији.

5. Материјал и методе рада

5.1. Материјал

Семе хибрида сунцокрета *Sumo 1 PR* (толерантан на трибенурон-метил), *Rimi* (толерантан на имазамокс) и осетљивог хибрида Душко биће обезбеђено из Института за ратарство и повртарство, Нови Сад. Семе самониклог усева сунцокрета (преклом од хибрида Сремца) прикупиће се са парцела факултетског добра Радмиловац (Београд), док ће се семе хибридних форми дивљег сунцокрета *Helianthus annuus* L. (ХФДС) сакупити са више локалитета током мапирања распрострањености популација овог короа у Србији.

У огледима ће се користити: (1) хербицид *Pulsar-40* (а.м. имазамокс 40 g L⁻¹) од произвођача *BASF Agro, Wadenswil*, и (2) хербицид *Express 50-SX* (а.м. трибенурон-метил 500 g kg⁻¹) од произвођача *Du Pont, International Operations, Switzerland* у препорученим количинама примене (1,2 L ha⁻¹ *Pulsar-40* и 45 g ha⁻¹ *Express 50-SX*).

Хербицид *Express 50-SX* ће се применити уз додатак 0,1% оквашивача *Trend-90*. Примена хербицида ће бити изведена леђном прскалицом *Solo 425* запремине 15 L са распрскивачем *XR TeeJet*, уз утрошак 300 L воде ha⁻¹. Огледи ће се изводити у пољским и контролисаним условима. Биљни материјал за молекуларне анализе произвешће се у контролисаним условима (у фитотрону), наклијавањем биљака добијених из укрштања у пољским условима (*F1* генерација). Произведене биљке у контролисаним условима из укрштања, тј. *F1* генерације ће се чувати у „deep freeze“ на -70°C или ће се лиофилизовати и тако чувати до даље процедуре. Молекуларне анализе радиће се у Лабораторији за биотехнологију уљаних биљних врста Института за ратарство и повртарство (Одељење за биотехнологију) у Новом Саду и у Молекуларној лабораторији за таксономију биљака и резистентност на пестициде Пољопривредног факултета Универзитета у Београду.

Мапирање распрострањености и проучавање интра и интер популационе варијабилности ХФДС, хибрида сунцокрета и популација *Helianthus tuberosus* L. на територији Србије радиће се током три сезоне.

Метеоролошки подаци (просечне дневне температуре и падавине) за вегетациону сезону током три године извођења огледа ће бити преузети са најближе хидро-метеоролошке станице.

5.2. Методе

Мапирање распрострањености хибридних форми дивљег сунцокрета

Мапирање распрострањености ХФДС радиће се током три вегетационе сезоне на подручјима интензивне производње сунцокрета где је примећено да су присутне велике популације овог корова. У теренски записник ће се поред *GPS* координата унети основни подаци о локалитету, типу површине, усеву, величини популације, бројности/густини популације, фази развоја биљака као и одређеним специфичностима које карактеришу дату популацију. У плану је да се овим снимањем обухвати око 200 локалитета где су присутне ХФДС. Осим мапирања ХФДС у плану је да се на неколико локалитета мапирају и популације сродне врсте *H. tuberosus*, због претпоставки да између поменутих врста постоји размена генетског материјала. Сви подаци ће се затим унети у програм „Google EARTH“ а потом израдити *UTM* („Universal Transverse Mercator“) мапе дистрибуције.

Популациона варијабилност

Проучавање интра и интер популационе варијабилности ХФДС је планирано на 17 популација које ће бити одабране након мапирања, као и код 5 хибрида сунцокрета и 3 популације *H. tuberosus*. У те сврхе користиће се фенотипски дескриптори прилагођени за биљке рода *Helianthus* (Presoto et al., 2009). У оквиру сваке маркиране популације, на 10 биљака оцењиваће се 28 параметара: број биљака у популацији, тип гранања, висина биљака, пречник стабла, угао гранања у односу на централну осу, морфологија листа (облик листа, облик основе лисне плоче, дужина и ширина листа, дужина лисне дршке, површина листа), вршни листић, присуство антоцијана, морфологија главице (број, пречник, облик, боја диска), морфологија језичастих

цветова (број, облик, дужина и ширина), брактеје (облик, дужина, ширина и маљавост) и присуство болести.

Пољски огледи

У прелиминарни пољским истраживањима ће се прво испитати оптимално време сетве, дужина вегетације и подударност времена цветања између гајеног, самониклог и ХФДС. На подручју Пожареваца (на 2 локације) ће се засновати пољски огледи за праћење спонтаног укрштања, односно, трансфера гена одговорног за толерантност на хербициде *ALS* инхибиторе са толерантних хибрида на осетљиве форме сунцокрета *H. annuus*.

На једном локалитету (Пожаревац, потез Меткор) ће се засновати оглед са толерантним хибридом *Sumo 1 PR* (толерантан на трибенурон-метил) са осталим формама сунцокрета (осетљиви хибрид Душко, самоникли усев пореклом од осетљивог хибрида Сремца, ХФДС), а на удаљености од 22-23 km ће се засновати други оглед (Топоница, потез Гај) са толерантним хибридом *Rimi* и осетљивим формама сунцокрета као код претходног огледа. Огледи ће бити засновани линијски у три реда дужине 350 m. Сетва ће се обавити пнеуматском сејалицом при стандардној густини 27x70 cm. У оба огледа у првих 50 m биће посејан толерантни хибрид сунцокрета а у наставку од 300 m у првом реду ће се сејати осетљиви хибрид Душко, у другом реду самоникли сунцокрет од хибрида Сремца и у трећем реду ХФДС. У другој години по истом принципу ће се засновати огледи само ће бити ротирани толерантни хибриди, односно, на локацији Пожаревац (потез Тулба, удаљена око 4 km од Меткора) ће бити посејан хибрид *Rimi* а на локацији Топоница (потез Селиште, удаљено око 4 km од Гаја) хибрид *Sumo 1 PR*. У циљу усклађивања времена цветања између све четири форме сунцокрета сетва ХФДС ће се извести 7-10 дана раније од осталих (у прелиминарним испитивањима је утврђено да ове биљке често крећу са цветањем касније). Просторна изолација за оба огледа ће бити осигурана тако што у пречнику од 3 km неће постојати други усев сунцокрета и тиме ће бити искључена могућност да у близини постоји други донор гена одговоран за толерантност на хербициде. Огледи ће бити засновани на земљиштима типа гајњача (лок. Топоница-Гај), алувијум (лом. Топоница- Селиште) и ритска црница (лок. Пожаревац- Меткор и Тулба) при стандардној агротехници гајења ратарских усева а остали корови ће бити уклањани копањем и по потреби оглед ће се заливати. Након цветања, на различитим удаљеностима од толерантних хибрида (1= 30 m, 2= 60 m, 3= 90 m, 4= 120 m, 5= 150 m, 6= 180 m, 7= 210 m, 8= 240 m, 9= 270 m, 10= 300 m) ће бити маркирано по 10 биљака у сваком од три реда на обе локације и обе године по истом принципу. Свака маркирана главица, тј. биљка код хибрида, односно, више главица са једне биљке код самониког сунцокрета Сремца и ХФДС ће представљати један узорак који ће у фази пуне зрелости бити прикуљен, семе просушено до 14% влаге и на собној температури чувано до следеће сезоне за даље тестирање.

У трећој години на локацији Топоница ће се тестирати осетљивост *F1* потомства осетљивог хибрида сунцокрета Душко, самониклог сунцокрета Сремца и ХФДС на хербициде *ALS* инхибиторе да би на основу реакција на примену препоручених доза хербоцида *Express 50-SX* и *Pulsar-40* могли говорити да ли је или не

дошло до трансфера *ANAS* гена. За контролу користиће се толерантни хибриди *Sumo 1 PR* и *Rimi* као и семе ХФДС сакупљено на локалитету Сурчин. Експериментално поље („plot”) ће бити подељено на два подпоља („sub-plot”), на једном подпољу биће посејано потомство из прве године пољског огледа а на другом подпољу потомство из друге године пољског огледа. Свако подпоље ће даље бити подељено на два дела („sub-sub-plot”), и на једном ће се сејати толерантни хибрид *Sumo 1 PR* и *F1* потомство осетљивог хибрида Душко, самониклог сунцокрета Сремца и ХФДС пореклом са локацији где је сејан хибрид *Sumo 1 PR*, а на другом делу под-подпоља толерантни хибрид *Rimi* и *F1* потомство осетљивог хибрида Душко, самониклог сунцокрета Сремца и ХФДС пореклом са локације где је гајен хибрид *Rimi*. За сваку варијанту ће бити посејано по 100 семена осим за потомство ХФДС где ће због слабије клијавости (изражене дормантности) бити посејано по 200 семена. Сетва ће се радити ручно у редове дужине 5 m са међуредним размаком од 15 cm. Након ницања биљке ће бити пребројане и тиме ће бити проверена клијавост семена *F1* потомства. Када биљке из *F1* потомства осетљивог хибрида Душко, самониклог сунцокрета Сремаца и ХФДС добијене са локације на којој је гајен толерантни хибрид *Sumo 1 PR*, као и сам хибрид *Sumo 1 PR* достигну фазу 2 пара правих листова (*BBCH* 13) биће третиране са препорученом количином хербицида *Express 50-SX* (а.м. трибенурон-метил, 45 g ha⁻¹) уз додатак 0,1% оквашивача *Trend-90*. На другом делу подпоља *F1* потомством осетљивог хибрида Душко, самониклог сунцокрета Сремаца и ХФДС добијеним на локацији на којој је гајен толерантни хибрид *Rimi*, као и сам хибрид *Rimi* буду у фази 2 пара листова (*BBCH* 13) ће такође бити третиране са препорученом количином хербицида *Pulsar-40* (а.м. имазамокс, 1,2 L ha⁻¹). Третмани ће бити примењени леђном прскалицом *Solo 425*, запремине 15 L са распрскивачем *XR TeeJet*, уз утрошак 300 L воде ha⁻¹. Ефекат третмана ће се радити визуелном оценом оштећења биљака 4 пута и то 7, 14, 21 и 28 дана након примене хербицида.

Молекуларне анализе

Биљни материјал ће бити прикупљен из свих претходно описаних пољских огледа и биљака које ће бити гајене у контролисаним условима (фитотрону) да би се молекуларним методама утврдило да ли је или не дошло до трансфера гена са толерантног хибрида сунцокрета (*Sumo 1 PR*) на сроднике, тј. осетљиви хибрид Душко, самоникли сунцокрет хибрида Сремца и ХФДС. Узеће се вршни листови биљака који су фотосинтетски најактивнији. По узорковању биљни материјал ће се чувати на температури од -70°C или ће се лиофилизовати (процес у коме при јако ниским температурама до -80°C и вакуму долази до тоталне дехидратација и тако лиофилизовани узорци се могу чувати дуго на собној температури). Екстракција ДНК вршиће се по *CTAB-KK v2* (cetyltrimethyl ammonium bromide) протоколу који се састоји из 20 „корака“ након чега ће се ДНК ресуспендовати у ТЕ пуферу и чувати на ниској температури (-20°C) до *PCR* („Polymerase Chain Reaction“) анализе. Након екстракције, помоћу *NANOPHOTOMETER P300* провериће се концентрација и чистоћа изоловане ДНК. Узорци са довољном концентрацијом и високом чистоћом ДНК ће се даље користити за *PCR* анализу. Праћење *ANAS* гена који је одговоран за толерантност хибрида сунцокрета на хербициде из група сулфонилуреа и имидазолинона (*ALS*

инхибитори) вршиће се *PCR* методом при чему ће се након екстракције ДНК из биљног материјала радити умножавање (*amplifikacija*) специфичног региона ДНК у машини за *PCR* у складу са одговарајућим протоколом. *PCR* анализа вршиће се на уређају „Mastercycler, Eppendorf“ по програму „TOUCH DOWN 3“ (Dimitrijević i sar., 2010). Овај програм састоји се од иницијалне денатурације ДНК у трајању од 3 минута на 95°C, 6 циклуса денатурације, анилинга и екстензије на различитим температурама и различитим трајањима након чега следи још 32 циклуса који се завршавају финалном екстензијом на 65°C у трајању од 20 минута. Умножавањем поменутог гена добиће се фрагмент ДНК који ће бити приближно исте дужине тј. фрагмент са приближно истим бројем базних парова. Као потврда успешне *PCR* анализе узорци ће бити пренети на „микрочип“ електрофорезу која ће се радити на уређају „MultiNA microchipelectrophoresis, Shimadzu“. *MultiNA* уређај има 4 микрочипа са каналићима кроз које се пропуштају узорци па на основу времена и брзине проласка узорака кроз каналиће микрочипова одмерава се величина фрагмената ДНК. Након електрофорезе *AHAS* ген биће подвргнут високо специјализованим рестрикционим ензимима (*BcnI*, *Kpn2I*). Ови рестрикциони ензими имају различите температуре дигестије-активације (*BcnI*- 37°C, *Kpn2I*- 55°C) и оба захтевају додаток „Tango“ пуфера. Улога рестрикционог ензима је да препозна тачно место мутације (на основу редоследа пуринских и пиримидинских база у ланцу ДНК) код отпорних и осетљивих генотипова. Дакле, уколико је испитивани генотип толерантан, рестрикциони ензим ће пресећи нуклеотидни ланац и обрнуто (уколико генотип није толерантан рестрикциони ензим неће пресећи нуклеотидни ланац) па ће се добити фрагменти различитих дужина, који ће се уз помоћ микрочип електрофорезе и других метода за визуелизацију продуката *PCR* анализе јасно уочавати.

Статистичка обрада података

Обрада података радиће се у програму СТАТИСТИКА 10, при чему ће се користити анализа варијансе (ANOVA), а разлике средина тестираће се помоћу *LSD*-теста на ниву значајности 0,01.

Рачунаће се коефицијент варијације на основу ког ће се утврдити која од испитиваних популација ХФДС је најстарија и представља изходни ареал ширења коровског сунцокрета у Србији.

Груписање популација ХФДС на основу коефицијента сличности, односно различитости (“Euclidean distances”) ће се радити *UPGMA* (“Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean”) методом.

6. Списак литературе која ће се користити

Списак кључних референци које оправдавају избор теме докторске дисертације дат је у Прилогу 1.

7. Списак саопштених и објављених научних и стручних радова кандидата

Списак сопствених радова да је у Прилогу 2.

8. Биографија кандидата

Дипломирани инжењер Дарко Стојићевић је рођен у Пожаревцу 16.12.1987. године. Пољопривредни факултет Универзитета у Београду, Одсек за заштиту биља и прехранбених производа завршио је 2011. године, одбраном дипломског рада под насловом „Испитивање ефикасности препарата Sedef (а.м. феноксапроп-п-етил)“, са просечном оценом 9,16. Исте године на истом факултету је уписао докторске студије. За ментора кандидат је консултовао проф. др Саву Врбничанин. Од марта 2012. године, као стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја Р. Србије, је био ангажован на пројекту „Развој интегрисаних система управљања штетним организмима у биљној производњи са циљем превазилажења резистентности и унапређења квалитета и безбедности хране“ (ИИИ46008). У периоду од марта 2012. до децембра 2014. године на Пољопривредном факултету БУ помагао је у извођењу вежби на Основним академским студијама на предметима Хербологија, Основи агротехнике, Основи хербологије, Екологија семена корова на групацији за Биљну производњу (модули: Фитомедицина, Воћарство и виноградарство, Ратарство са повртарство, Хортикултура).

У протеклом периоду учествовао је у пројектима:

-*EU FP7 REGPOT AREA* пројекат „Advancing Research in Agricultural and Food Sciences at Faculty of Agriculture, University of Belgrade“ [2012-2016]

-*COST Action FA12003* “Sustainable Management of *Ambrosia artemisiifolia* in Europe (SMARTER)” [2012-2016]

-Пројекат III 46008 „Развој интегрисаних система управљања штетним организмима у биљној производњи са циљем превазилажења резистентности и унапређења квалитета и безбедности хране“ [2012-2014]

Од децембра 2014. године ради на Високој техничкој школи струковних студија у Пожаревцу као сарадник у настави за области Агрономија и Заштита животне средине. Задужен је за извођење вежби из предмета: Ентомологија, Фитофармација, Корови и њихово сузбијање, Екологија животиња, Биологија 2 и Специјална ентомологија.

Члан је Друштва за заштиту биља Србије, Херболошког друштва Србије и Европског друштва за проучавање корова (EWRS).

9. Закључак и предлог

На основу чињеница изнетих у пријави докторске дисертације Дарка Стојићевића, дипл. инж., а које се односе на научни и стручни значај изабране проблематике, актуелности теме, полазних хипотеза, предложених метода рада и очекиваних резултата може се закључити: (i) да ће докторанд прецизно утврдити дистрибуцију ХФДС на територији Србије и урадити УТМ мапе, (ii) детаљно проучити интра и интер популациону варијабилност ХФДС, (iii) утврдити која од испитиваних популација ХФДС је најстарија и представља исходишни ареал ширења хибридних форми дивљег сунцокрета у Србији, (iv) утврдити (биотестом у пољским условима и молекуларно анализом) ли је дошло или не до трансфера *AHAS* гена одговорног за толерантност на хербициде *ALS* инхибиторе (а.м. трибенурон-метил и имазамокс) са

толерантних хибрида сунцокрета Сумо 1 ПР и Рими на осетљиви хибрид Душко, осетљиви самоникли сунцокрет пореклом од хибрида Сремца и ХФДС када расту на одређеној удаљености.

Истраживања ове врсте су недовољно рађена како у нашој земљи тако и у Свету, и очекује се да ће ова теза пружити значајан допринос у развоју антирезистентне стратегије и унапређењу интегралних мера сузбијања корова као и стављање под контролу хибридних форми дивљег сунцокрета *Helianthus annuus* L. које су последње деценије у експанзији на подручјима интензивне производње сунцокрета. На основу свега изнетог постоје реалне основе за мишљење да предложена тема фокусирана на проучавање распрострањености, популационе варијабилности и реакција ХФДС *H. annuus* на хербициде ALS инхибиторе пружа сигурну могућност за израду квалитетне докторске дисертације.

Полазећи од наведених констатација, Комисија позитивно оцењује поднету пријаву и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати и одобри израду докторске дисертације Дарка Стојићевића, дип. инж., под пријављеним насловом „**Хибридне форме дивљег сунцокрета *Helianthus annuus* L.: распрострањеност, варијабилност и реакција на хербициде ALS инхибиторе**“. Комисија предлаже за ментора при изради ове докторске дисертације др Саву Врбничанин, ред. проф. Пољопривредног факултета Универзитета у Београду.

Београд, 24.11.2016. године

Чланови Комисије:

др Сава Врбничанин, ред. проф.
Пољопривредног факултета
Универзитета у Београду
(ужа научна област: Хербологија)

др Драгана Божић, ванр. проф.
Пољопривредног факултета
Универзитета у Београду
(ужа научна област: Хербологија)

др Драгана Миладиновић, научни
саветник Института за ратарство и
повртарство Нови Сад
(ужа научна област: Генетика и
оплећење биљака)

Прилог 1

Списак кључних референци које оправдавају избор теме

1. Al-Khatib, K., Baumgartner, J.R., Petersen, D.E., Curie, R.S. (1998): Imazethapyr resistance in common sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Weed Science* 46: 403-407.
2. Arias, D.M., Rieseberg, L.H. (1994): Gene flow between cultivated and wild sunflowers. *Theoretical and Applied Genetics* 89: 655-660.
3. Deines, S.R., Blinka, E.L., Regehr, D.L., Staggenborg, S.A. (2004): Common sunflower (*Helianthus annuus*) and shattercane (*Sorghum bicolor*) interference in corn. *Weed Science* 52: 976-983.
4. Dimitrijević, A., Imerovski, I., Miladinović, D., Tančić, S., Dušanić, N., Jocić, S., Miklič, V. (2010): Use of SSR markers in identification isogenic lines in late generations of backcrossing. *Helia* 53: 191-193
5. Gutierrez, A., Carrera, A., Basualdo, J., Rodriguez, R., Cantamutto, M., Poverene, M. (2010): Gene flow between cultivated sunflower and *Helianthus petiolaris* (Asteraceae). *Euphytica* 172: 67-76.
6. Jocić, S., Škorić, D., Malidža, G. (2001) Oplemenjivanje suncokreta na otpornost prema herbicidima. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo* 35: 223-233.
7. Jovičić, D., Nikolić, Z., Petrović, D., Ignjatov, M., Taški-Ignjatović, K., Tatić, M. (2011): Uticaj abiotičkih faktora na klijanje i klijavost semena. *Zbornik referata*, 45. Savetovanje agronoma Srbije.
8. Lilleboe, D. (1997): Wild opportunity Sunflower. April/May: 8-9.
9. Massinga, R.A., Al-Khatib, K., Amand, P.S., Miller, J.F. (2003): Gene flow from imidazolinone-resistant domesticated sunflower to wild relatives. *Weed Science* 51: 854-862.
10. Miller, J.F., Al-Khatib, K. (2000): Development of herbicide resistant germplasm in sunflower; 15th International Sunflower Conference, Toulouse, France, Proceedings, pp. 37-41.
11. Muller, M-H., Delieux, F., Fernandez-Martinez, J. M., Garric, B., Lecomte, V., Anglade, G., Leflon, M., Motard, C., Segura, R. (2009): Occurrence, distribution and distinctive morphological traits of weedy *Helianthus annuus* L. populations in Spain and France. *Genetic Resources and Crop Evolution* 56: 869-877.
12. Novák, R., Dancza, I., Szentey, L., Karamán, J. (2009): Arable weeds of Hungary. Fifth National Weed Survey (2007-2008). Ministry of Agriculture and Rural Development, Hungary.
13. Presotto, A., Cantamutto, M., Poverene, M., Seiler, G. (2009): Phenotyping diversity in wild *Helianthus annuus* from Argentina. *Helia* 32(50): 37-50.
14. Presotto, A., Fernández-Moroni, I., Poverene, M., Cantamutto, M. (2011): Sunflower crop-wild hybrids: Identification and risks. *Crop Protection* 30: 611-616.
15. Presotto, A., Ureta, M.S., Cantamutto, M., Poverene, M. (2012): Effects of gene flow from IMI resistant sunflower crop to wild *Helianthus annuus* populations. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 146: 153-161.
16. Sauliuc, M., Stojicevic, D., Matkovic, A., Bozic, D., Vrbnicanin, S. (2013): Weedy sunflower as invasive weed species 4th ESENIAS Workshop: International Workshop on IAS in Agricultural and Non-Agricultural Areas in ESENIAS Region. Çanakkale, Turkey. Book of Abstracts, 45.

17. Stanković-Kalezić, R., Kojić, M., Radivojević, Lj., Vrbničanin, S. (2007): *Helianthus annuus* - a new important element of the ruderal and agrestal flora in Serbia's region of Southern Banat. *Helia* 30: 37-40.
18. Ureta, M.S., Carrera, A.D., Cantamutto, M.A., Poverene, M.M. (2008): Gene flow among wild and cultivated sunflower, *Helianthus annuus* in Argentina. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 123: 343-349.
19. Vischi, M., Cagiotti, M., Cenci, C., Seiler, G.J., Olivieri, A.M. (2006): Dispersal of wild sunflower by seed and persistent basal stalks in some areas of Central Italy. *Helia* 29(45): 89-94.
20. Vrbničanin, S., Karadžić, B., Dajić Stevanović, Z. (2004): Adventivne i invazivne korovske vrste na području Srbije. *Acta biologica Iugoslavica, series G: Acta herbologica* 13(1): 1-13.
21. Vrbničanin, S., Božić, D., Pavlović, D., Sarić, M. (2010): Fitness of the population of invasive volunteer sunflower. 2nd International Workshop on Invasive Plants in the Mediterranean Type Regions of the World, Trabzon- Turkey, Abstract book, 85.
22. Vrbničanin, S., Stojićević, D., Božić, D., Saulić, S. (2014): Hibridna forma divljeg suncokreta *Helianthus annuus* L. *Biljni lekar* 42(4): 257-272.

Прилог 2

Списак саопштених и објављених радова кандидата са пуним референцама:

1. Božić, D., **Stojićević, D.**, Saulić, M., Vrbničanin, S. (2014): Transfer gena odgovornih za tolerantnost na herbicide sa useva na divlje srodnike. *Acta herbologica* 23 (1): 63-75.
2. Božić, D., Nikolić, N., Obradović, N., Loddo, D., **Stojićević, D.**, Saulić, M., Savić, A., Vrbničanin, S. (2015): Populaciona varijabilnost *Abutilon theophrasti* Medik. različitog geografskog porekla. XIII Savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea, 78.
3. Božić, D., **Stojićević, D.**, Savić, A., Saulić, M., Trivunović, B., Vrbničanin, S. (2016): Morfološka varijabilnost populacija *Abutilon theophrasti* Medik. različitog geografskog porekla. X Kongres o korovima, Vrdnik, Zbornik rezimea, 56-57.
4. Božić, D., Vrbničanin, S., Pavlović, D., **Stojićević, D.** (2014): Monitoring weed resistance and crop tolerance in Serbia. EU Project Collaborations: Challenges for Research Improvements in Agriculture, Belgrade, Serbia, Abstract book, 40.
5. Božić, D., Vrbničanin, S., Sarić-Krsmanović, M., Pavlović, D., **Stojićević, D.** (2013): Effects of imazamox and tribenuron-methyl on chlorophyll fluorescence of sunflower hybrids. 1st International Conference on Plant Biology, 20th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society, Subotica (Serbia), Abstract book, 135.
6. Dimitrijević, A., Cantamutto, M., Poverene, M., **Stojićević, D.**, Božić, D., Vrbničanin, S., Imerovski, I., Miladinović, D. (2014). Agroecological characterization of the wild sunflower from three sunflower crop regions of South America and Europe. International Conference „Capturing wild relative and landrace diversity for crop improvement“, Cambridge, England, UK. Abstract book, 86.
7. Onc-Jovanovic, E., Bozic, D., Vrbnicanin, S., Kacarevic, A., **Stojicevic, D.** (2014): Impact of meteorological conditions on competitive interaction between maize and weed species *Abutilon theophrasti* Medik. VII Congress on Plant Protection, „Integrated Plant Protection Knowledge – Based Step Towards Sustainable Agriculture, Forestry and Landscape Architecture“, Book of Abstracts, 113-114.
8. Poverene, M., Dimitrijević, A., **Stojićević, D.**, Božić, D., Vrbničanin, S., Imerovski, I., Miladinović, D., Cantamutto, M. (2014): Broomrape occurrence in natural populations of annual *Helianthus* sp. In: Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanch* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. Int. Sunflower Assoc., Paris, France, Proceedings, pp. 169-172.
9. Saulić, M., **Stojićević, D.**, Božić, D., Vrbničanin, S. (2015): The influence of temperature and light on germination of *Ambrosia artemisiifolia* L., *Avena fatua* L., *Xanthium strumarium* L. and *Helianthus annuus* L. In: D. Marčić, M. Glavendekić, P. Nicot (Eds.) Proceedings of the 7th Congress on Plant Protection. Plant Protection Society of Serbia, IOBC-EPRS, IOBC-WPRS, Belgrade, pp. 311–315.
10. Saulić, M., **Stojicevic, D.**, Matkovic, A., Bozic, D., Vrbnicanin, S. (2013): Population variability of weedy sunflower as invasive species. Proceedings of the 4th ESENIAS Workshop: International Workshop on IAS in Agricultural and Non-Agricultural Areas in ESENIAS Region, Çanakkale, Turkey, Proceedings, pp. 79-85.
11. **Stojićević, D.**, Božić, D., Dimitrijević, A., Miladinović, D., Vrbničanin, S. (2016): Osetljivost hibridnih formi divljeg suncokreta prema tribenuron-metilu i imazamoksu. X Kongres o korovima, Vrdnik, Zbornik rezimea, 74.
12. **Stojićević, D.**, Petrović, I., Saulić, M., Dimitrijević, A., Božić, D., Miladinović, D., Vrbničanin, S. (2016): Populaciona varijabilnost hibridnih formi divljeg suncokreta. X Kongres o korovima, Vrdnik, Zbornik rezimea, 26.

13. **Stojićević, D.**, Radivojević, N., Stevanović, S., Matković, A., Božić, D. (2012): Reakcije *Avena fatua* L. na piroksulam. *Acta herbologica* 21: 87-93.
14. **Stojicevic, D.**, Saulic, M., Dimitrijevic, A., Bozic, D., Miladinovic, D., Vrbnicanin, S. (2014): Population variability of weedy sunflower based on seed morphological traits. 4th International Symposium- Environmental Weeds and Invasive Plants, Montpellier, France, Abstract book, 105.
15. Stokić, K., Vrbničanin, S., Pavlović, D., **Stojićević, D.**, Jovanović-Radovanov, K., Božić, D. (2016): Reakcije korovskih vrsta *Ambrosia artemisiifolia*, *Ambrosia trifida*, *Helianthus annuus* i *Xanthium strumarium* na tribenuron-metil. X Kongres o korovima, Vrdnik, Zbornik rezimea, 66.
16. Trifković, M., Saulić, M., **Stojićević, D.**, Božić, D., Vrbničanin, S. (2013): Populaciona varijabilnost i generativna produkcija korovskog suncokreta (*Helianthus annuus* L.). XII savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor. Zbornik rezimea, 46.
17. Vrbničanin, S., **Stojićević, D.**, Božić, D., Saulić, S. (2014): Hibridne forme divljeg suncokreta *Helianthus annuus* L. *Biljni lekar* 42(4): 257-272.
18. Vrbnicanin, S., Bozic, D., Pavlović, D., **Stojicevic, D.** (2014): Response of *Sorghum halepense* (L.) Pers. to nicosulfuron. III International Symposium and XIX Scientific Conference of Agronomists of Republic of Srpska, Trebinje, Bosnia and Herzegovina, Book of Abstracts, 382.
19. Vrbnicanin, S., Bozic, D., Pavlović, D., **Stojićević, D.** (2014): Response of Ragweed to Herbicides: Imazamox, Tribenuron-Methyl and Glyphosate. 8th International Conference on Biological Invasions from understanding to understanding to action, Antalya, Turkey, Proceedings, pp. 186-187.
20. Vrbničanin, S., Božić, D., Pavlović, D., **Stojićević, D.**, Jovanović-Radovanov, K., Jevtić, M., Stokić, K. (2015): The influence of tribenuron-methyl, imazamox and glyphosate on biological production of *Ambrosia artemisiifolia* L. In: D. Marčić, M. Glavendekić, P. Nicot (Eds.) Proceedings of the 7th Congress on Plant Protection. Plant Protection Society of Serbia, IOBC-EPRS, IOBC-WPRS, Belgrade, pp. 107-110.
21. Vrbnicanin, S., Bozic, D., Saric-Krsmanovic, M., **Stojicevic, D.** (2013): Relative tolerance of weedy sunflower to nicosulfuron application. Joint Workshop of the EWRS working groups: Novel and Sustainable Weed Management in Arid and Semi-arid Agro Ecosystems and Weed Mapping, Crete, Greece, Abstract book, 88.
22. Vrbničanin, S., Božić, D., Sarić-Krsmanović, M., **Stojićević, D.**, Onć- Jovanović, E. (2013): Ocena fitnesa populacija korovskog suncokreta (*Helianthus annuus* L.). *Acta herbologica* 22: 89-98.
23. Vrbnicanin, S., Pavlovic, D., Bozic, D., **Stojicevic, D.**, Jovanovic-Radovanov, K., Jevtic, M., Stokic, K. (2014): The influence of tribenuron-methyl, imazamox and glyphosate on biological production of *Ambrosia artemisiifolia* L. VII Congress on Plant Protection, „Integrated Plant Protection Knowledge – Based Step Towards Sustainable Agriculture, Forestry and Landscape Architecture“, Book of Abstracts, 177-178.