

Факултет Пољопривредни

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

33/10-5.2.

(Број захтева)

26.09.2018.

(Датум)

Веће научних области  
биотехничких наука

(Назив већа научне области коме се захтев  
упућује)

## ЗАХТЕВ

### за давање сагласности на одлуку о прихватању теме докторске дисертације и о одређивању ментора

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 186/15-пречишћени текст и 189/16), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације:

„Улога морфо-анатомске грађе у осетљивости *Chenopodium album* L. и *Abutilon theophrasti* Medik. према мезотриону“.

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ Фитомедицина

#### ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

1.

Филип, Иван, Врањеш

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

Универзитет у Београду -

Пољопривредни факултет, Студијски програм  
Фитомедицина

3. Година завршетка

претходног нивоа студија: 2012.

4. Година уписа на докторске студије: 2012/2013.

5. Назив студијског програма  
докторских студија:

Пољопривредне науке, модул Фитомедицина

## ПОДАЦИ О МЕНТОРУ:

Име и презиме ментора: Драгана Божић

Звање: ванредни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Pavlovic, D., Vrbnicanin, S., Bozic, D., Fischer, A. (2008): Morpho-physiological traits and triazine resistance levels in *Chenopodium album* L. Pest Management Science, 64 (2), 101-107.
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. Bozic D., Saric M., Onc-Jovanovic E., Pavlovic D., Vrbnicanin S. (2013): Effect of nicosulfuron on plant traits of *Xanthium strumarium*. Journal of Plant Diseases and Protection, 120 (5/6), 233–237.
4. Bozic, D., Barac, M., Saric-Krsmanovic, M., Pavlovic, D., Ritz, C, Vrbnicanin, S. (2015): Common Cocklebur (*Xanthium strumarium*) Response to Nicosulfuron. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 43, 186-191.
5. Vrbnicanin S., Onc-Jovanović E., Božić D., Sarić-Krsmanović M., Pavlović D., Malidža G., Jarić S. (2017): Velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medik.) productivity in competitive conditions. Archives of Biological Sciences, 69 (1), 157-166.

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће Пољопривредног факултета

на седници одржаној 26.09.2018. 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

- Прилог
1. Одлука Наставно-научног већа о прихватању теме и одређивању ментора
  2. Извештај Комисије

Универзитет у Београду  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ  
Број: 33/10-5.2.  
Датум: 26.09.2018. године  
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 44. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће факултета на седници одржаној 26.09.2018. године, донело је

### О Д Л У К У

**I ПРИХВАТА СЕ** извештај о позитивној оцени пријаве теме докторске дисертације коју је поднео **ФИЛИП ВРАЊЕШ**, мастер и одобрава израда дисертације под насловом: **«УЛОГА МОРФО-АНАТОМСКЕ ГРАЂЕ У ОСЕТЉИВОСТИ *Chenopodium album* L. и *Abutilon theophrasti* Medik. ПРЕМА МЕЗОТРИОНУ».**

**II** За ментора се именује др Драгана Божић, ванредни професор.

**III** На одлуку о прихватању теме докторске дисертације и одређивању ментора сагласност даје одговарајуће Веће научних области Универзитета у Београду.

**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: 03.09.2018. године

БЕОГРАД-ЗЕМУН

**Предмет: Извештај Комисије о оцени пријаве докторске дисертације Филипа Врањеша, мастер**

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду бр 33/8-3.1. од 30.05.2018. године именовани смо у Комисију за оцену пријаве докторске дисертације **Филипа Врањеша**, мастер, под насловом „**Улога морфо-анатомске грађе у осетљивости *Chenopodium album* L. и *Abutilon theophrasti* Medik. према мезотриону**“.

Комисија у саставу др Драгана Божић, ванредни професор, др Сава Врбничанин, редовни професор, др Данијела Павловић, виши научни сарадник, Институт за заштиту биља и животну средину, Београд, после разматрања пријаве кандидата, узимајући у обзир све релевантне чињенице од значаја за пријаву израде наведене дисертације, подноси следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

**1. Назив дисертације**

Кандидат Филип Врањеш, мастер дипломирани инжењер, је поднео пријаву за израду докторске дисертације, коју је комисија прихватила под насловом „**Улога морфо-анатомске грађе у осетљивости *Chenopodium album* L. и *Abutilon theophrasti* Medik. према мезотриону**“.

**2. Предмет и програм истраживања**

У образложењу теме кандидат указује да је, упркос томе што се на тржишту може наћи велики број хербицида, пракса и даље суочена са бројним проблемима који

ограничавају сузбијање корова. Забринутост јавности због ризика примене и негативног утицаја пестицида на животну средину и јавно здравље намеће потребу за смањењем њихове употребе. Тенденције су да се производњом здравствено безбедне хране осигура безбедност и заштита људи и животне средине, што подразумева примену алтернативних мера сузбијања корова. Међутим, примена хербицида је и даље доминантна мера у борби против ових штетних агенаса. Како је примена хемијских средстава и даље најзаступљенија мера за сузбијање корова, утврђивање минималне количине која је потребна за постизање задовољавајуће контроле корова може бити оптимално решење за постизање циља смањења примене хербицида. Бројне студије су показале да различити хербициди могу ефикасно сузбијати корове у количинама нижим од препоручених (Khaliq et al., 2011; Rappacci, 2016). За успешно сузбијање корова неопходно је добро познавање карактеристика хербицида (ефикасност, перзистентност, механизам деловања), затим реакција биљака на хербициде, односно осетљивости коровских и истовремено толерантности гајених биљака на ова једињења, као и познавање биологије и екологије коровских врста и њихових карактеристика значајних за испољавање осетљивости према хербицидима. Већ дуже време на тржиште се не пласирају нови молекули хербицида, а нарочито не нови молекули са новим механизмом деловања. Из тог разлога је потребно што боље познавати карактеристике постојећих хербицида и услове под којима могу испољити висок ниво ефикасности како би се што боље искористио њихов потенцијал, а уједно одложила појава резистентности, која је један од најозбиљнијих проблема са којим се струка суочава. Стога, треба имати у виду да осетљивост корова на хербициде не зависи само од примењеног препарата, већ и од бројних других (абиотичких и биотичких) фактора, чији неповољан утицај може значајно смањити ефекат хербицида.

Фенофаза развоја коровске врсте представља значајан фактор од кога зависи ефекат фолијарних хербицида, при чему су најосетљивији корови у почетној фази развоја, тј. чија фаза раста не прелази 4-6 листова. Са развојем биљке долази до повећања површине листова, измена у њиховој грађи (што отежава усвајање хербицида) и физиологији (што се одражава на њихов метаболизам у биљци). Услед тога, осетљивост на хербициде се значајно смањује у поређењу са биљкама које се третирају у раним фазама..

Физичко-хемијска својства кутикуларних воскова утичу на усвајање раствора хербицида. Осим тога, на усвајање хербицида утичу и промене у квалитету епikuтикуларних (површинских) воскова код листова биљака различите старости. Иако се зна да се током онтогенетског развоја мења количина и хемијски састав кутикуларног воска, што су Rieder и Müller (2006) потврдили за епikuтикуларне воскове на лицу листа *Prunus laurocerasus*, слабо је познато како те промене утичу на усвајање хербицида.

Кандидат даље разматра значај и улогу маљавости листова у усвајању хербицида, при чему истиче да су тумачења везе између маљавости и усвајања хербицида често контрдикторна, при чему је доминантније мишљење да длаке ометају усвајање хербицида. Међутим, сматра се да иако длаке на површини листова неких врста онемогућавају директан и брз контакт капи хербицидног раствора са површином листа, оне доприносе

усвајању хербицида у случају када је њихова површина засићена, тако што смањују испаравање. Тако су Grangeot и сар. (2006) су утврдили да један од три типа длака на листовима *Ambrosia artemisiifolia* утиче на задржавање хербицидног раствора услед тога што се на површини епидермиса формира хидрофилни слој.

Према објашњењима докторанда разлике у карактеристикама листова коровских врста условљавају разлике у њиховој осетљивости према хербицидима, па су стога као подесне модел биљке за истраживања у овој дисертацији одабране врсте *Chenopodium album* L. и *Abutilon theophrasti* Medik. које се одликују листовима потпуно различитих карактеристика, а при том су економски значајне коровске врсте осетљиве на мезотрион. Обе врсте су једногодишње, космополитског распрострањења, при чему изазивају значајне губитке приноса у окопавинама). *C. album* се одликује присуством воштане превлаке на површини листа која представља баријеру за апсорпцију хербицида (Burghardt et al., 2006). Насупрот томе, листови *A. theophrasti* су поктивени длакама конусног облика са тупим врхом (Shaheen et al., 2009), при чему ова врста има значајно више длака у односу на већину корова па чак и односу на неке друге коровске врсте рода *Abutilon* (Shaheen et al., 2009), што може значајно смањити усвајање хербицида и осетљивост на њихово деловање. Оно што отежава сузбијање ове врсте јесте и јако развучен период клијања и ницања током сезоне.

Докторанд у образложењу теме наводи да је за истраживање изабран хербицид мезотрион (IUPAC 2-[4-(Methylsulfonyl)-2-nitrobenzoyl]cyclohexane-1,3-dione), који је намењен за ПРЕ-ЕМ и ПОСТ-ЕМ сузбијање широколисних корова у кукурузу, укључујући *C. album* и *A. theophrasti* и веома подесан због развученог периода примене и могућности да се у кукурузу примењује дуже од других хербицида (до фазе 8-10 листова кукуруза), тако да се њиме могу сузбијати и касније изникле биљке корова. Припада хемијској групи трикетона и катализује конверзију тирозина до пластокинона и  $\alpha$ -токоферола, односно, инхибира ензим 4-хидроксифенилпируват диоксигеназа (HPPD), што доводи до смањења биосинтезе каротеноида, услед чега долази до избељивања ткива и увенућа биљке (Mitchell et al., 2001). Симптоми деловања код осетљивих биљака постају видљиви у року 3 до 5 дана након примене и испољавају се у виду избељивања листова, а затим се јавља некроза (Creech et al., 2004; Joy et al., 2009). Ефикасан је у сузбијању следећих врста: *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus*, *Abutilon theophrasti*, *Polygonum pensylvanicum*, *Xanthium strumarium*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Sonchus oleraceus* (Nurse et al., 2010; Sutton et al., 2002; Armel et al., 2003), али постоји и слабо деловање на усколисне корове (Johnson and Young, 2002).

Кандидат указује да се за брже и лакше утврђивање осетљивости коровских биљака на хербициде могу користити прецизне и недеструктивне методе засноване на праћењу стресног деловања хербицида на пигменте листа укључујући Раманову спектроскопију, одређивање релативног садржаја и флуоресценције хлорофила. Пигменти су интегрално повезани са физиолошком функцијом листова, па се стога, на основу варијација у

садржају пигмената може индиректно утврдити физиолошко стање листова, а тиме и ефекат хербицида.

У овој докторској дисертацији ће се са различитих аспеката проучавати осетљивост коровских врста *C. album* и *A. theophrasti* на мезотрион у различитим фазама развоја биљака (код *C. album* фазе 2, 4, 6, 8 и 10 развијених листова, а код *A. theophrasti* фазе 1, 2, 3, 4 и 5 развијених лисотва). На основу анализе морфо-анатомске грађе листова, тј. површинских стурктура листа (код *C. album* воштаних жлезда и стома, а код *A. theophrasti* длака и стома), анатомске грађе листа (дебљине епидермиса лица и наличја, дебљине палисадног и сунђерастог ткива, као и дебљине мезофила и укупне дебљине листа) и квалитативног и квантитативног састава епикутикларних воскова у листовима биће утврђена улога ових параметара у испољавању осетљивости *C. album* и *A. theophrasti* према мезотриону. У фазама које се покажу као најосетљивије и најподесније за примену мезотриона биће урађена детаљна испитивања реакција биљака ових врста на растуће количине мезотриона, на основу чега ће бити израчунате ефективне дозе хербицида: ED<sub>50</sub>, ED<sub>90</sub> и ED<sub>95</sub>. Такође, биће испитана могућност употребе недеструктивних и прецизних метода за утврђивање реакција биљака *C. album* и *A. theophrasti* на мезотрион, укључијући читавање релативног садржаја хлорофила (Minolta SPAD-502 хлорофилметром), флуоресценције хлорофила (РАМ-2100 флуориметром) и садржаја каротеноида (RAMAN спектроскопијом).

### 3. Научни циљ истраживања

Основни циљеви истраживања у овој докторској дисертацији су да се:

- утврди осетљивост *C. album* и *A. theophrasti* на мезотрион у различитим фазама почетног развоја биљака;
- одреде ефективне дозе (ED<sub>50</sub>, ED<sub>90</sub> и ED<sub>95</sub>) мезотриона у односу на *C. album* и *A. theophrasti* у фази која се покаже као најосетљивија и најподеснија за примену овог хербицида;
- испита могућност употребе недеструктивних и прецизних метода (релативни садржај хлорофила Minolta SPAD-502 хлорофилметром, флуоресценција хлорофила РАМ-2100 флуориметром и садржај каротеноида RAMAN спектроскопијом) за утврђивање реакција биљака *C. album* и *A. theophrasti* према мезотриону;
- сагледају анатомске (дебљина епидермиса лица и наличја, дебљина палисадног и сунђерастог ткива, као и дебљина мезофила и укупна дебљина листа) и морфолошке (код *C. album* воштаних жлезда и стома, а код *A. theophrasti* броја длака и стома) промене листова са старењем *C. album* и *A. theophrasti* и њихова улога у осетљивости ових биљака на мезотрион;

- проуче квалитативне и квантитативне промене епikuтикуларних воскова са старењем листова *C. album* и *A. theophrasti* и њихова улога у осетљивости ових биљака према мезотриону.

#### 4. Основне хипотезе од којих се полази

На основу претходних истраживања пошло се од претпоставки да:

- се са старењем биљака *C. album* и *A. theophrasti* мења њихова осетљивост према мезотриону;
- мезотрион може имати висок ниво ефикасности на *C. album* и *A. theophrasti* и у количини нижој од препоручене уколико се примени у ранијој фази развоја ових врста;
- се прецизне и недеструктивне методе (одређивање релативног садржаја хлорофила Minolta SPAD-502 хлорофилметром, флуоресценције хлорофила PAM-2100 флуориметром и садржаја каротеноида RAMAN спектроскопијом) могу користити за утврђивање реакција *C. album* и *A. theophrasti* према мезотриону;
- се са старењем листова *C. album* и *A. theophrasti* мења њихова морфо-анатомска грађа и квалитативни и квантитативни састав епikuтикуларних воскова;
- анатомске и морфолошке промене листова које настају као последица старења листова утичу на осетљивост биљака *C. album* и *A. theophrasti* према мезотриону;
- промене у квалитивном и квантитавном саставу епikuтикуларних воскова у листовима *C. album* и *A. theophrasti* утичу на њихову осетљивост према мезотриону.

#### 5. Материјал и методе рада

Семена *C. album* и *A. theophrasti* ће бити прикупљена са обрадивих површина у околини Београда и чувана у мраку на собној температури 20-25°C. Експерименти ће бити реализовани у лабораторијама Пољопривредног факултета Универзитета у Београду. Испитиване коровске врсте ће бити посејане у пластичне саксије, испуњене супстратом Floragard TKS 1. У сваку саксију ће бити посејано по 10 семена одговарајуће врсте на дубину од 0,5 cm. Биљке ће бити гајене у коморама за гајење са режимом светлости (дан/ноћ) 14 h / 10 h и одговарајућим температурама 27°C / 22°C и заливане свакодневно запремином воде која обезбеђује оптималу влажноост земљишта. Након ницања број биљака ће рашчупавањем бити сведен на четири биљке по саксији.

Осетљивост *C. album* и *A. theophrasti* према мезотриону у различитим фазама почетног развоја биљака биће утврђена на основу примене препоручене количине овог хербицида (120 g а.м. ha<sup>-1</sup>) на биљке у различитим фазама развоја (*C. album*: 2, 4, 6, 8 и 10 развијених листова, *A. theophrasti*: 1, 2, 3, 4 и 5 развијених листова). Када биљке достигну наведене фазе биће примењена препоручена количина препарата Skaut (а.м. мезотрион 480

g l<sup>-1</sup>, SC) уз додатак ађуванта Alteox wet 40 (а.м. минерално уље (500 g l<sup>-1</sup>) и полиокси алкохол (500 g l<sup>-1</sup>)) у количини 1 l ha<sup>-1</sup>. Хербицид ће бити примењен лабораторијском прскалицом која распрскава 200 l воде по хектару под притиском 276 КПа. За сваку испитивану фазу развоја биће обезбеђен исти број нетретираних биљака (контрола). Ефекат хербицида ће бити оцењен 14 дана након примене хербицида на основу визуелне процене, а након 7 дана сушења на собној температури биће измерена и сува маса биљака. Експеримент ће бити поновљен 2 пута по потпуно случајном блок систему у четири понављања.

За фазу развоја која се на основу претходних испитивања покаже као најосетљивија према препорученој количини мезотриона биће утврђене ефективне дозе ED<sub>50</sub>, ED<sub>90</sub> и ED<sub>95</sub> овог хербицида. Биљке за ова истраживања ће бити одгајене на начин како је претходно описано и када достигну одговарајућу фазу развоја, биће примењен исти горе наведени препарат у количинама: 3,75, 7,5, 15, 30, 60 и 120 g а.м. ha<sup>-1</sup>. У свим третманима ће бити додат ађувант Alteox wet 40 (а.м. минерално уље (500 g l<sup>-1</sup>) и полиокси алкохол (500 g l<sup>-1</sup>)) у количини 1 l ha<sup>-1</sup>. Четрнаест дана након примене препарата биће мерена надземна маса биљака након 7 дана сушења на собној температури. Експеримент ће бити поновљен 2 пута по потпуно случајном блок систему у четири понављања.

Оглед за утврђивање ефеката хербицида на релативни садржај и флуоресценцију хлорофила биће постављен на исти начин као и за одређивање ефективних количина на основу суве масе биљака. Релативни садржај и флуоресценција хлорофила ће бити прочитани три дана након примене хербицида. Релативни садржај хлорофила биће прочитан хлорофилметром Minolta SPAD-502 (Minolta Corp., Ramsey, NJ, USA), који на основу интензитета зелене боје листова индиректно мери садржај хлорофила у листу. Флуоресценција хлорофила, тј. однос Fv/Fm (однос варијабилне и максималне флуоресценције) који је индикатор стреса код биљака (нпр. хербицидни стрес) биће прочитан помоћу флуориметра PAM-2100 (Heinz Walz, GmbH, Effeltrich, Germany).

Садржај каротеноида у листовима биљака *C. album* и *A. theophrasti* третираних мезотрионом биће одређен Рамановом спектроскопијом. Када биљке достигну одговарајућу фазу развоја (фазу која се у претходним испитивањима покаже као најосетљивија према мезотриону), биће примењен препарат мезотрион у препорученој количини (120 g а.м. ha<sup>-1</sup>) уз додатак ађуванта Alteox wet 40. Такође, биће укључен исти број нетретираних биљака (контрола). Експеримент ће бити поновљен 2 пута по потпуно случајном блок систему у четири понављања. Раманови спектри ће бити снимани у опсегу 900 - 2000 cm<sup>-1</sup> XploRA Рамановим спектрометром (Horiba Jobin Yvon), на листовима контролних и биљака третираних хербицидом. Применом Раманове спектроскопије у комбинацији са микроскопом биће снимљени каротеноиди у појединачним епидермалним ћелијама листова. Раманово расејавање ће бити побуђено Nd/YAG ласером на таласној дужини од 532 nm са максималном снагом ласера од око 20-25 mW. За калибрацију ће бити коришћен силикон са карактеристичном траком на позицији 520,47 cm<sup>-1</sup>. Укупно време снимања на сваком узорку ће бити 1 секунда, са корекцијом филтера 10%. У

програмски пакет Origin 8.6 (OriginLab, Northampton, MA, USA) на свим добијеним спектрима ће бити кориговане базне линије, нормализовани интензитети (помоћу карактеристичне C=C везе за каротеноиде на положају траке  $1522\text{ cm}^{-1}$ ), уклоњене сумљиве траке из спектра и утицај космичких зрака. Снимање листова ће бити урађено првог, другог, трећег и седмог дана након примене мезотриона, ради утврђивања релативног садржаја каротеноида, као и промене тог садржаја током седам дана након примене хербицида. Садржај каротеноида биће процењен на основу промена интензитета трака на положајима  $1522$  и  $1155\text{ cm}^{-1}$ , који су типични за каротеноиде.

За проучавање улоге морфолошке грађе листова (броја воштаних жлезда и стома присутних на лицу и наличју листа *C. album*, односно броја длака и стома присутних на лицу и наличју листа *A. theophrasti*) биће узорковани листови са биљака *C. album* у фази 10, односно *A. theophrasti* у фази 5 развијених листова. На основу старости и величине, листови обе врсте ће бити подељени у 5 подузорака (третмана), при чему ће сваки третман садржати по 20 листова.

За утврђивање броја воштаних жлезда и стома на лицу и наличју листова *C. album* епидермис лица/наличја ће бити премазан безбојним лаком и након сушења ољуштен помоћу селотејпа, а затим пренет на микроскопску плочицу. Припремљени препарати ће бити фотографисани на светлосном микроскопу LEICA DM 2000, дигиталном камером LEICA DFC 320, а воштане жлезде и стоме ће бити избројане у софтверском пакету LEICA IM 1000.

За утврђивање броја длака и стома присутних на лицу и наличју листа *A. theophrasti* листови ће бити припремљени поступком за избељивање листова. У раствор глацијалне сирћетне киселине и 95% алкохола (однос 1:3) биће потопљени листови и инкубирани на  $55^{\circ}\text{C}$  током 24 h. Након испирања 70% алкохолом листови ће бити потопљени у 80% млечну киселину и поново инкубирани 2 h у термостату на  $55^{\circ}\text{C}$ . До момента фотографисања биће чувани у млечној киселини на собној температури. Непосредно пре фотографисања листови ће бити пренети на микроскопске плочице и фотографисани на бинокулару NIKON SMZ18, дигиталном камером NIKON digital sight DS-Fi1c, а мерење ће бити обављено у софтверском пакету NIS elements D 4.30.

За анализу параметара анатомске грађе листова, узорци листова ће бити узети на исти начин као при анализи морфолошких параметара и на исти начин подељени у 5 третмана по врсти. До израде трајних препарата за светлосну микроскопију узорци ће бити чувани у 50% етанолу. Сваки третман ће садржати по 5 листова. Микроскопски препарати ће бити припремљени стандардном парафинском методом (Ruzin, 1999). Дехидратација узорака ће бити урађена помоћу аутоматског ткивног процесора (Leica TP1020) кроз серију раствора етанола растуће концентрације. Након просветљавања ксилолом ткиво ће бити постепено импрегнирано парафином. Узорци укалупљени у Histowax (на  $56\text{--}58^{\circ}\text{C}$ ) ће бити охлађени на хладној плочи (Leica EG1130), а калупи затим сечени на дебљину од 5-7  $\mu\text{m}$  клизним микротомом (Leica SM 2000 R) и исправљени на воденом купатилу. Депарафинизација и рехидратација пресека ће бити урађена урањањем

предметних плочица са залепљеним пресецима у ксилол, а затим у серију раствора етанола различитих концентрација. Анатомски пресеци ће бити обојени хистолошким бојама сафранином и алцијајан плавом (Ruzin, 1999). Процес депарафинизације, рехидратације, бојења, а затим поновне дехидратације пресека ће бити урађен аутоматски помоћу апарата Leica ST4040. На обојене пресеке ће помоћу Канада балзама бити залепљена покривна плочица, чиме се добијају трајни микроскопски препарати. Препарати ће бити анализирани на микроскопу Leica DCML опремљеном дигиталном камером LEICA DC 300 и софтвером Leica IM1000. Са трајних препарата биће мерени следећи параметри: дебљина листа, дебљина епидермалних ћелија лица и наличја листа, дебљина мезофила, палисадног и сунђерастог ткива, и рачуната укупна дебљина листа. Сви параметри ће бити мерени у 30 понављања по третману (5 препарата по третману x 6 мерења по препарату).

Квалитивне и квантитавне промене хемијског састава епикутикуларних воскова са старењем листова *C. album* и *A. theophrasti* биће анализирани на листовима различите старости (*C. Album*- фазе 2, 4, 6, 8, 10; *A. theophrasti* - фазе 1, 2, 3, 4, 5 листова). При узорковању листова из сваке фазе биће узето по 3 узорка масе око 1 g. Узорковани листови у свакој фази ће бити међусобно сличне величине. До анализе узорци ће бити чувани на температури -20°C. Епикутикуларни воскови ће бити екстраховани са површине листова са 20 ml хексана. Екстракција ће се вршити благим мућкањем 1 минут. Екстракт ће бити процеђен кроз филтер папир и упарен до сува. Овако упарени екстракти ће бити растворени у CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> и анализирани GC/MS методом.

GC-FID и GC/MS анализе ће бити урађене помоћу инструмента Agilent 7890A опремљеног са системом за аутоматско ињектовање (Agilent GC Sampler 80), масеним детектором са квадруполним анализатором Agilent 5975C XL EI/CI (MSD), пламено-јонизационим детектором (FID) и капиларном колоном HP-5 MS 5% Phenyl Methyl Silox (30 m × 0,25 mm i.d. × 0,25 μm дебљина филма). Температурни програм ће бити подешен да расте линеарно 3°C/min од 60 до 300°C. Температура ињектора ће бити 250°C; температура детектора 300°C; температура извора 230°C, температура квадруполоа 150°C. Као носећи гас ће бити хелијум (16,255 ψ, у режиму константног притиска). Узорци (1 μl) ће бити ињектовани у режиму без раздвајања. За добијање масених спектра ће се користити електронска јонизација (EI-MS; 70eV) и вршиће се детекција јона у опсегу 30-550 m/z. Компоненте ће бити идентификоване поређењем њихових EI масених спектра са спектрима из библиотека Wiley и NIST коришћењем софтвера NIST MS Search 2.0 и AMDIS, као и поређењем израчунатих ретенционих индекса (RI) са ретенционим индексима библиотека. На основу добијених резултата биће одређени релативни удели сваке компоненте у појединачним узорцима.

## Статистичка обрада података

Статистичка обрада података ће бити урађена у статистичком софтверу STATISTICA 5.0 помоћу *LSD* и/или *t* –теста за сва испитивања изузев за утврђивање ефективних доза хербицида.

За израчунавање ефективних доза хербицида ( $ED_{50}$ ,  $ED_{90}$  и  $ED_{95}$ ) биће коришћен статистички софтвер R (R Development Core Team 2011) и *drc* пакет (Ritz and Streibig 2005). Ефективне количине ће бити израчунате за следеће параметре: сува материја, Fv/Fm и релативни садржај хлорофила. На основу тога биће процењене количине мезотриона потребне за 50, 90 и 95% редукције мерених париметара ( $ED_{50}$ ,  $ED_{90}$  and  $ED_{95}$ ). Подаци (за обе врсте) ће бити анализирани коришћењем логаритамског модела од три параметра (Knezevic et al. 2007), према једначини:

$$y = d/(1+\exp(b(\log(x) - e))) \quad [1]$$

Где  $x$  означава примењену количину хербицида,  $y$  реакцију биљке на ту количину,  $e$  логаритамску вредност  $ED_{50}$ ,  $d$  горњу асимптоту,  $b$  релативни нагиб.

Поред наведеног, у статистичком софтверу STATISTICA 5.0 биће урађена корелациона анализа ради потврђивања/одбацивања претпоставке о зависности реакције биљака на хербицид од фазе развоја, као и ради поврђивања/одбацивања претпоставке о међузависности фазе развоја биљке и морфо-анатомске грађе листа, као и квалитативног и квантитативног састава воскова.

## 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 саопштених и објављених радова кандидата дат је у Прилогу 2.

## 8. Биографија кандидата

Мастер дипломирани инжењер Филип (Иван) Врањеш је рођен 7.12.1985. године у Београду, Република Србија. Завршио је основну школу „Горња Варош“ у Земуну 2000., а затим Десету београдску гиманзију „Михајло Пупин“, општи смер, 2004. године.

Основне академске студије уписао је школске 2004/2005 године на Универзитету у Београду, Пољопривредном факултету у Земуну, на одсеку Заштита биља и прехранбених производа. Као редован студент на одсеку за Заштиту биља и прехранбених производа,

дипломирао је 2010. године, са просечном оценом 8,16 (осам шеснаест). Дипломски рад под називом „Ефикасност препарата Coragen (hlorantraniliprol) у сузбијању *Cydia pomonella* на јабуци“ одбранио је на Катедри за пестициде, са оценом 10. Школске 2011/2012 године на истом факултету, на одсеку за Фитомедицину, уписао је мастер студије које 2012. године завршава са просечном оценом 9,88 (девет осамдесет осам). Дипломски рад под називом „Испитивање фунгицида у Европској унији на примеру препарата Avalon (a.s. pirimetanil)“ одбранио је на Катедри за пестициде, са оценом 10. Школске 2012/13 године такође на истом факултету уписује докторске студије на смеру Пољопривредне науке, модул Фитомедицина. Од 04.04.2011. године засновао је радни однос на неодређено време у компанији „Галеника Фитофармација а.д.“, Београд-Земун. Аутор, односно коаутор је 10 објављених или саопштених радова (Прилог 2). Говори енглески језик, а служи се грчким и немачким језиком.

## 9. Закључак и предлог

На основу чињеница изнетих у пријави докторске дисертације Филипа Враћеша, мастер, а које се односе на научни и стручни значај изабране тематике, савременост теме, полазних хипотеза, предложених метода и очекиваних резултата може се закључити да ће се егзактно утврдити: (1) осетљивост *C. album* и *A. theophrasti* на мезотрион у различитим фазама развоја биљака; (2) ефективне дозе ( $ED_{50}$ ,  $ED_{90}$  и  $ED_{95}$ ) мезотриона у односу на *C. album* и *A. theophrasti* у фази која се покаже као најосетљивија и најподеснија за примену овог хербицида и (3) могућност употребе недеструктивних и прецизних метода (одређивање релативног садржаја хлорофила хлорофилметром Minolta SPAD-502, флуоресценције хлорофила флуориметром РАМ-2100 и садржаја каротеноида RAMAN спектроскопијом) за утврђивање реакција биљака на мезотрион; (4) анатомске и морфолошке промене листова са старењем *C. album* и *A. theophrasti* и њихова улога у осетљивости на мезотрион и 5) квалитивне и квантитативне промене епikuтикуларних воскова са старењем листова *C. album* и *A. theophrasti* и њихова улога у осетљивости ових биљака према мезотриону. Истраживања ове врсте ће се први пут реализовати у нашој земљи, а таквих је веома мало и у свету, и очекује се да ће ова докторска дисертација пружити значајан допринос у унапређењу сузбијања ових економски штетних коровских врста мезотрионом, као и значајан допринос у расветљавању улоге фазе развоја биљака, морфо-анатомске грађе листова и квантитативног и квалитативног сасатава епikuтикуларних воскова листа у испољавању осетљивости биљака према мезотриону. Осим тога, даће значајан допринос у сагледавању могућности примене прецизних недеструктивних метода за утврђивање реакција биљака на хербициде инхибиторе биосинтезе каротеноида, а нарочито примене Раманове спектроскопије која је до сада врло мало коришћена у испитивању интеракција коров- хербицид. На основу свега изнетог

постоје реалне основе за мишљење да предложена тема пружа добру основу 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 Филипа Врањеша, мастер, под насловом **"Улога морфо-анатомске грађе у осетљивости *Chenopodium album* L. и *Abutilon theophrasti* Medik. према мезотриону"**. Комисија предлаже за ментора при изради ове докторске дисертације др Драгану Божић, ванр. проф. Пољопривредног факултета Универзитета у Београду.

Београд, 03.09.2018.

Чланови Комисије:

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

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

др Данијела Павловић, виши научни сарадник  
Институт за заштиту биља и животну средину, Београд  
(ужа научна дисциплина:  
Хербологија)

## Прилог 1.

### Списак кључних референци које оправдавају избор теме:

1. Armel, G., Wilson, H., Richardson, R., Hines T. (2003): Mesotrione alone and in mixtures with glyphosate in glyphosate-resistant corn (*Zea mays*). Weed Technology, 17, 680–685.
2. Basset, I., Crompton, C. (1978): The biology of Canadian weeds. 32 *Chenopodium album*. Canadian Journal of Plant Science, 58, 1061-1072.
3. Burghardt, M., Friedmann, A., Schreiber, L., Riederer, M. (2006): Modelling the effects of alcohol ethoxylates on diffusion of pesticides in the cuticular wax of *Chenopodium album* leaves. Pest Management Science, 62, 137–147.
4. Creech, J., Monaco, T., Evans, J. (2004): Photosynthetic and growth responses of *Zea mays* L and four weed species following post-emergence treatments with mesotrione and atrazine. Pest Management Science, 60, 1079–1084.
5. Grangeot, M., Chauvel, B., Gauvrit, C. (2006): Spray retention, foliar uptake and translocation of glufosinate and glyphosate in *Ambrosia artemisiifolia*. Weed Research, 46, 152-162.
6. Joy, M., Abit, M., Al-Khatib, K. (2009): Absorption, Translocation, and Metabolism of Mesotrione in Grain Sorghum. Weed Science, 57, 563-566.
7. Khaliq, A., Matloob, A., Tanveer, A., Areeb, A., Aslam, F., Abbas, N. (2011): Reduced doses of sulfonylurea herbicide for weed management in wheat fields of Punjab, Pakistan. Chielan Journal of Agricultural Research, 71, 424-429.
8. Knezevic, S., Streibig, J., Ritz, C. (2007): Utilizing R Software Package for Dose-Response Studies: The Concept and Data Analysis. Weed Technology, 21, 840-848.
9. Mitchell, G., Bartlett, D., Fraser, T., Hawkes, T., Holt, D., Towson, J., Wichert, R. (2001): Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. Pest Management Science, 57, 120-128.
10. Nurse, R., Hamill, A., Swanton, C., Tardif, F., Sikkema, P. (2010): Weed control and yield response to mesotrione in maize (*Zea mays*). Crop Protection, 29, 652–657.
11. Pannacci, E. (2016): Optimization of foramsulfuron doses for post-emergence weed control in maize (*Zea mays* L.). Spanish Journal of Agricultural Research, 14, e1005-1014.
12. R Development Core Team (2011): R: a Language and Environment for Statistical Computing [Online]. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available: <http://www.R-project.org>.
13. Rieder, M., Müller, C. (2006): Biology of the plant cuticle. Annual Plant Reviews, 23. Blackwell Publishing Ltd.
14. Ritz, C., Streibig, J.C. (2005): Bioassay analysis using “R”. Journal of Statistical Software, 12, 1e22.
15. Ruzin, S. (1999): Plant microtechnique and microscopy. Oxford, Oxford University Press, 332.

16. Shaheen, N., Ajab Khan, M., Yasmin, G., Qasim Hayat, M., Ahmad, M., Zafar, M., Jabeen, A. (2009): Implication of foliar epidermal features in the taxonomy of *Abutilon* Mill. (Malvaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 3, 1002-1008.
17. Sterling, T., Putnam, A. (1987): Possible role of glandular trichome exudates in interference by velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). *Weed Science*, 35, 308-314.
18. Sutton, P., Richards, C., Buren, L., Glasgow L. (2002): Activity of mesotrione on resistant weeds in maize. *Pest management Science*, 58, 981-984.
19. Telfer, A., Bollman, K., Poething, S. (1997): Phase change and the regulation of trichome distribution in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 124, 645-654.
20. Warwick, S., Black, L. (1988): The biology of Canadian weeds. 90. *Abuthilon theophrasti*. *Canadian Journal of Plant Science* 68, 1069-1085.

**Прилог 2. Списак саопштених и објављених радова кандидата са пуним референцама:**

1. **Vranjes F.**, Zecevic, V., Miletic, N. (2015): Susceptibility of *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae) to use of some acaricides in apple orchards in Serbia. 18th International Plant Protection Congress, August 24 - 27, 2015. Berlin, Germany.
2. Vrbničanin, S., Onć-Jovanović, E., Božić, D., Sarić-Krsmanović, M., **Vranješ, F.** (2016): Effect of velvetleaf (*Abuthilon theophrasti* Medic.) density on corn. 7<sup>th</sup> International Weed Science Congress, 19-25 June, Prague Czech Republic.
3. Пећинар, И., Божић Д., Ранчић Д., Левић С., **Врањеш Ф.**, Врбничанин С. (2016): Примена ФТИР спектроскопије у идентификацији промена на листовима након примене хербицида. Десети конгрес о коровима, Врдник, 21-23. септембар, Зборник резимеа, 22.
4. Пећинар, И., Божић, Д., Ранчић, Д., **Врањеш, Ф.** (2016): Примена РАМАН спектроскопије у детекцији каротеноида у листовима *Chenopodium album* и *Abuthilon theophrasti* након примене мезотриона. Десети конгрес о коровима, Врдник, 21-23. септембар, Зборник резимеа, 24.
5. **Врањеш, Ф.**, Арсенијевић, Н., Божић Д. (2016): Осетљивост *Chenopodium album* и *Abuthilon theophrasti* на мезотрион у зависности од фенофазе развоја. Десети конгрес о коровима, Врдник, 21-23. септембар, Зборник резимеа, 28.
6. **Врањеш, Ф.**, Нешковић, М. (2016): Могућности сузбијања корова у усеву соје. Десети конгрес о коровима, Врдник, 21-23. септембар, Зборник резимеа, 32.
7. **Врањеш, Ф.**, Арсенијевић, Н., Божић, Д. (2016): Осетљивост *Chenopodium album* и *Abutilon theophrasti* на мезотрион у зависности од фенофазе развоја. Acta herbologica, 25, 27-34.
8. **Врањеш, Ф.**, Божић, Д., Ранчић, Д., Анђелковић, А., Врбничанин, С. (2017): Проучавање анатомске грађе листа *Chenopodium album* у функцији осетљивости на хербициде. Acta herbologica, 26, 31-40.
9. **Врањеш, Ф.**, Божић, Д., Врбничанин, С., Недељковић, Д. (2017): Осетљивост коровске врсте *Chenopodium album* L. на мезотрион. XIV Саветовање о заштити биља, Златибор, 27. новембра - 01. децембра, Зборник резимеа, 33.
10. **Vranješ, F.**, Vrbničanin, S., Nedeljković, D., Božić, D. (2018): Comparative assessment of *Chenopodium album* and *Abutilon theophrasti* response to mesotrione. 18<sup>th</sup> European Weed Research Society Symposium, 17-21 June, Ljubljana, Slovenia.

## ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

**Име и презиме ментора:** Драгана Божић, ментор

Звање: ванр. проф.

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Pavlovic, D., Vrbnicanin, S., Bozic, D., Fischer, A. (2008): Morpho-physiological traits and triazine resistance levels in *Chenopodium album* L. Pest Management Science, 64 (2), 101-107.
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. Bozic D., Saric M., Onc-Jovanovic E., Pavlovic D., Vrbnicanin S. (2013): Effect of nicosulfuron on plant traits of *Xanthium strumarium*. Journal of Plant Diseases and Protection, 120 (5/6), 233–237.
4. Bozic, D., Barac, M., Saric-Krsmanovic, M., Pavlovic, D., Ritz, C., Vrbnicanin, S. (2015): Common Cocklebur (*Xanthium strumarium*) Response to Nicosulfuron. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 43, 186-191.
5. Vrbnicanin S., Onc-Jovanović E., Božić D., Sarić-Krsmanović M., Pavlović D., Malidža G., Jarić S. (2017): Velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medik.) productivity in competitive conditions. Archives of Biological Sciences, 69 (1), 157-166.