

Факултет Пољопривредни

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

32/5-3.1.

(Број захтева)

27.02.2019.

(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:

„Осетљивост лиснатог поврћа и купусњача на резидуално деловање мезотриона“
(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ Фитомедицина

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

1. Милена, Сладоје, Радивојевић

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета,
студијски програм):
Пољопривредни факултет, Студијски програм
Фитомедицина

Универзитет у Београду

3. Година завршетка
претходног нивоа студија: 2014.

4. Година уписа на докторске студије: 2014/2015.

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, Đ., 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.

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће Пољопривредног факултета

на седници одржаној 27.02.2019. 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 Душан Живковић

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

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 32/5-3.1.
Датум: 27.02.2019. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 44. Статута Пољопривредног факултета (2018. година), Наставно-научно веће факултета на седници одржаној 27.02.2019. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени пријаве теме докторске дисертације коју је поднела **МИЛЕНА РАДИВОЈЕВИЋ, мастер** и одобрава израда дисертације под насловом: **«ОСЕТЉИВОСТ ЛИСНАТОГ ПОВРЋА И КУПУСЊАЧА НА РЕЗИДУАЛНО ДЕЛОВАЊЕ МЕЗОТРИОНА».**

II За ментора се именује др Сава Врбничанин, редовни 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 Душан Живковић)

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

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

Датум: 29.01.2019. година

БЕОГРАД-ЗЕМУН

Предмет: Извештај Комисије о оцени пријаве докторске дисертације Милене Радивојевић, мастер. инж.

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду бр: 32/4-3.1. од 30.01.2019. године именовани смо у Комисију за оцену пријаве докторске дисертације Милене Радивојевић, мастер инж., под насловом "Осетљивост лиснатог и купусног поврћа на резидуално деловање мезотриона". Комисија у саставу др Сава Врбничанин, редовни професор, др Катарина Јовановић-Радованов, доцент и др Љиљана Радивојевић, виши научни сарадник Института за пестициде и животну средину у Земуну-Београд, 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 Милена Радивојевић, мастер инж., је поднела пријаву за израду докторске дисертације под горе наведеним насловом, а комисија предлаже да се он измени и гласи: **"Осетљивост лиснатог поврћа и купусњача на резидуално деловање мезотриона"**.

2. Предмет и програм истраживања

У образложењу теме докторске дисертације кандидат прво дефинише и објашњава термин перзистентност хербицида, истичући позитивне стране овог својства, које се огледају у дужем периоду заштите усева од корова. Међутим, резидуално или продужено деловање хербицида може резултирати појавом фитотоксичности на наредним усевима у плодореду, при чему оштећења изразито осетљивих биљака могу бити изазвана веома малим количинама остатака (Riddle, 2012). У зависности од физичко-хемијских својстава активних супстанци хербицида, карактеристика земљишта, метеоролошких услова у вегетационој сезони након примене хербицида, као и начина, времена и количине примене, само део остатака

хербицида бива доступан биљкама, при чему само у одређеним, за то повољним условима, долази до испољавања фитотоксичности (Sekutowski, 2011).

Кукуруз (*Zea mays* L.) је најзаступљенија гајена врста у ратарској производњи у Србији, са сетвеном површином од преко милион хектара (без значајних осцилација у периоду 2015-2017. године). Сходно томе, на тржишту пестицида налази се већи број активних супстанци намењених сузбијању корова у усеву кукуруза, а које се разликују по механизму и месту деловања, времену примене, спектру и дужини деловања, могућности комбиновања (мешања) са другим активним супстанцама и селективности за сам усев. Дугогодишња пракса у сузбијању корова у усеву кукуруза заснивала се на примени земљишних хербицида, који су омогућавали добар почетни развој усева, а што је један од предуслова за остваривање добрих приноса. Међутим, већина земљишних хербицида активност испољава само у условима обезбеђености земљишта довољном количином влаге, што значи, да са изостанком падавина након њихове примене, изостају и очекивани ефекти у погледу сузбијања корова. Ако се имају у виду две чињенице: (1) евидентне климатске промене које се манифестују сушнијим пролећима и (2) повлачење из употребе појединих хербицида, који су се карактерисали добрим спектром, дугим резидуалним деловањем и могућношћу комбиновања са другим активним супстанцама, јасно је зашто се све већи значај даје примени фолијарних хербицида. Након ницања усева кукуруза, корови су већ никли, па се на основу заступљености врста врши избор хербицида одговарајућег спектра деловања, а фолијарна примена, као једина мера хемијске заштите усева од корова, обезбеђује сигурну заштиту и директну уштеду смањеним утрошком хемикалија и мањим бројем прскања. Међутим, овај приступ захтева поштовање једног веома битног принципа – критичног времена сузбијања корова. То значи да се сузбијање корова мора извести у одређеној фенофази развоја усева, у којој корови својим бројношћу и хабитусом још увек нису, као конкуренти, надјачали усев. Свако кашњење у спровођењу мера сузбијања корова, неминовно ће резултирати смањењем приноса кукуруза (Gantoli et al., 2013; Tursun et al., 2016). Да би овај принцип могао да се испоштује, неопходно је да се хербицид карактерише изразитом селективношћу за усев, али и флексибилношћу у погледу времена примене. Таква својства има мезотрион, хербицид из групе трикетона (Nurse et al., 2010). Мезотрион 2-(4-*mesil*-2-*nitrobenzoi*l) *cikloheksan*-1,3-*dion* је хербицид који се користи за сузбијање широког спектра широколисних корова у усеву кукуруза. Примењује се после сетве, а пре ницања (PRE-EM) и после ницања усева (POST-EM) (Creach et al., 2004). С обзиром на то да мезотрион има изразиту селективност у односу на кукуруз, као и велику флексибилност у POST-EM третманима због продужених рокова примене тј. до фенофазе 8 развијених листова, последњих година добија на све већем значају и има све већу примену у усеву кукуруза. Механизам деловања овог хербицида заснива се на инхибирању ензима 4-хидроксифенилпируват диоксигеназе (HPPD), кључног ензима у биосинтези пластохинона и токоферола. Пластохинон је кофактор ензима фитоен-десатуразе (PDS), те његов дефицит онемогућава активност овог ензима, чиме се прекида процес биосинтезе каротеноида (Creach et al., 2004; Beaudegnies et al., 2009). Мезотрион спада у групу хербицида умерене до слабе перзистентности. Главну улогу у деградационим

процесима имају микроорганизми, а разградња се одвија до потпуне минерализације (Pose-Juan et al., 2015). Брзина деградације зависи од адсорпције на коју утиче рН земљишта, а у мањем степену и садржај органске материје (Shaner et al., 2012). Мезотрион је слаба киселина која при рН изнад 3,1 прелази у своју анјонску форму, која се слабо адсорбује, односно, брже подлеже деградацији. На перзистентност мезотриона утиче и текстура земљишта, па је тако утврђено да се у различитим типовима земљишта у површинском слоју, разгради преко 90% од количине која је применом доспела до земљишта у периоду од 3,6 – 4,7 месеци. Остаци мезотриона (6 – 10% од примењене количине) могу се наћи у слоју дубине 0 – 10 cm на крају вегетационе сезоне (Rouchaud et al., 2000). До сада утврђене вредности полуживота мезотриона су у распону од 2 – 50 дана, а најдужа перзистентност је била у земљиштима типа пескуше и песковите иловаче (Rouchaud et al., 2000; Chen et al., 2012; Barchanska et al., 2015). Такође, утврђено је да временски услови у току вегетационе сезоне у којој је хербицид примењен, могу имати значајну улогу на перзистентност мезотриона (Maeghe et al., 2002). Највећи значај у том смислу има количина падавина током прва два месеца од примене, док падавине које уследе након тог периода, чак и ако су у сувишку, неће имати значајан утицај на перзистентност мезотриона.

Досадашња испитивања показала су да се мезотрион не испира у дубље слојеве земљишта. Релативно је непокретан и углавном се задржава у горњих 15 cm земљишног профила (Rouchaud et al., 2000). Покретљивост мезотриона зависи од типа земљишта, при чему је у глиновитим, иловастим и песковито-иловастим типовима земљишта забележена већа концентрација мезотриона у слоју од 0 – 2 cm у првих месец дана након примене. Након овог периода уочене су извесне разлике. У песковитом земљишту мезотрион је био дифузно распоређен и његова концентрација је била слична у слоју од 0 – 10 cm. Код глиновитих и песковитих земљишта остаци мезотриона брже доспевају у слој од 10 – 15 cm, што није случај код иловастих земљишта. Код иловастог и песковито-иловастог земљишта, мезотрион није пронађен у слоју од 15 – 20 cm, за разлику од песковитог и глиновитог.

Осим што поседује добру ефикасност за намене за које се користи, мезотрион је привукао пажњу због свог резидуалног деловања које добија на важности и као потенцијална, али и реална опасност за наредне биљке у плодореду, због могућих оштећења, па и значајнијег смањења приноса (Riddle, 2012). Међутим, мали је број података који говори осетљивости поврћа на резидуално деловање мезотриона. Утврђено је да остаци мезотриона, годину дана након примене, могу изазвати оштећења бораније, краставца, купуса и паприке (Felix et al., 2007; Soltani et al., 2007; Robinson, 2008).

За детекцију остатака мезотриона пре сетве/садње наредних биљака у плодореду пожељно је користити једноставне методе, како би се спречило оштећење или пропадање усева и смањили економски губици. Отуда, биотестови се често користе за одређивање остатака хербицида који изазивају фитотоксичне ефекте (Riddle, 2012), али за њихово извођење је потребно дуже време, као и укључивње спектрофотометријских метода за добијање поузданих резултата. За детекцију остатака, поред биотестова, велику примену нашле су и хемијско-инструменталне аналитичке методе, које знатно

брже могу обезбедити резултате о количини остатака мезотриона присутног у земљишту (Kaczynski et al., 2016; Pang et al., 2016).

Полазећи од претходно наведеног у овој докторској дисертацији ће се:

- методом биотеста у контролисаним условима испитати осетљивост лиснатог поврћа и купусњача на мезотрион (применом различитих концентрација ове активне супстанце чиме се симулирају различити нивои остатака у земљишту);
- применон спектрофотометријске методе утврдити осетљивост испитиваних биљних врста у односу на најосетљивији параметар, произишао из механизма деловања мезотриона;
- применом одговарајућег статистичког модела регресионе анализе израчунати параметри осетљивости, на основу којих ће се утврдити разлика у осетљивости испитиваних биљних врста;
- у пољским условима, током две вегетационе сезоне, на два типа земљишта и за две количине примене утврдити динамика деградације мезотриона, која ће се исказати израчунавањем вредности полуживота;
- применом хемијско-инструменталних метода утврдити ниво остатака у различитим временским периодима након примене мезотриона;
- на основу добијених резултата проценити у којим временским интервалима, након примене мезотриона, је безбедно сејати/расађивати испитиване биљне врсте из група лиснатог поврћа и купусњача.

3. Научни циљ истраживања

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

- ниво осетљивости и разлике у осетљивост лиснатог поврћа и купусњача у раним фазама развића, на симулиране остатке мезотриона у контролисаним условима;
- деловање различитих концентрација мезотриона на морфолошке и физиолошке параметре (свежа маса изданка, садржај пигмената: хлорофила и каротеноида);
- израчунавање EC_{50} , као и EC_{10} и EC_{20} вредности (као показатеља осетљивости испитиваних биљних врста, односно граничних вредности за безбедну сетву усева после примене мезотриона у предусеву);
- динамика деградације мезотриона у земљишту у пољским условима, у два различита типа земљишта, при различитим количинама примене и током две вегетационе сезоне израчунавањем одговарајућих вредности полуживота мезотриона (DT_{50});
- ниво остатака мезотриона у различитим временским интервалима од момента примене па до годину дана након тога;
- могућност сетве испитиваних повртарских и других врста као пострних, или, у ситуацијама када дође до пропадања усева у коме је већ извршена примена мезотриона.

4. Основне хипотезе од којих се полази

На основу претходних истраживања пошло се од претпоставки:

- да постоје разлике у осетљивости изабраних биљних врста лиснатог поврћа и купусњача на резидуално деловање мезотриона;
- да постоји разлика у осетљивости мерених морфолошких и физиолошких параметара;
- да се мезотрион разграђује релативно споро, те да ће и након годину дана од примене у земљишту бити остатака овог хербицида;
- да се динамика деградације мезотриона може разликовати током различитих вегетационих сезона у зависности од земљишних и климатских фактора, али и количине примене;
- да се одређене биљне врсте лиснатог поврћа и купусњача могу гајити у наредној сезони, или, у истој сезони у случају пропадања усева кукуруза у коме је примењен хербицид на бази активне супстанце мезотрион.

5. Материјал и методе рада

Материјал

За истраживање ће се користити семе сората изабраних гајених биљака: салата (Daguan F1), спанаћ (Matador), блитва (Liscia verde da taglio), ендивија (Gialla a cuore pieno), купус (Potomak F1), карфиол (Cauliflower F1, variety White excel), броколи (Green magic F1) и уљана репица (Banaćanka).

У испитивањима осетљивости и праћења деградације користиће се препарат на бази активне супстанце мезотрион намењен за комерцијалну употребу, и то *Callisto 480 SC* (Syngenta Crop Protection AG) (мезотрион 480 g/l).

Огледи ће бити постављени и изведени у контролисаним (фитотрон) и пољским условима, а све анализе узорака биће обављене у лабораторијским условима. За извођење биотеста у циљу утврђивања осетљивости изабраних биљака, користиће се нетретирано земљиште из поља (локалитет: Стара Пазова) док ће се праћење деградације обавити на локалитетима Голубац и Јаребице (околина Лознице).

Методе

Биотест у контролисаним условима – за утврђивање осетљивости биљака на остатке мезотриона

Методом биотеста у лабораторијским условима испитиваће се осетљивост лиснатог (салата, спанаћ, блитва и ендивија) поврћа и купусњача (купус, броколи, карфиол и уљана репица) на симулиране остатке мезотриона у земљишту. Испитивања осетљивости биљака на хербициде подразумевају примену серије концентрација ($1x$, $\frac{1}{2}x$, $\frac{1}{4}x$, $\frac{1}{8}x$, $\frac{1}{16}x$, $\frac{1}{32}x$, $\frac{1}{64}x$, $\frac{1}{128}x$ и $0x$), при чему x одговара већој препорученој количини примене у пољу, изражено као $\mu\text{g a.s./kg}$ земљишта, а како би се успоставио доза-одговор однос и на основу њега израчунала EC_{50} као компаративни показатељ за поређење са другим биљним врстама. Користиће се земљиште са парцеле које претходно није третирана хербицидима и припада текстурној класи иловаче. Након

сушења, земљиште (претходно просејано кроз сито промера 5 mm) се размева у узорке од по 600 g (за сваку од предвиђених концентрација = појединачни третман). Узорак просејаног земљишта се распореди у танком слоју у пластичу кадицу димензија 60 x 50 cm. Од претходно припремљеног раствора одмери се 6 ml пипетом и пренесе у прскалицу за танкослојну хроматографију која је прикључена на компресор. Овом количином раствора третира се припремљено земљиште, равномерно по целој површини и под константним притиском од 1,2 bar-а, чиме се обезбеђује равномерна и квантитативна примена хербицида. На овај начин, добиће се серија узорака земљишта са тачно одређеним концентрацијама хербицида: 240, 120, 60, 30, 15, 7,5, 3,75 и 1,875 µg/kg. Највиша концентрација (240 µg/kg a.s.) одговара вишој препорученој количини примене мезотриона у пољу – 120 g a.s/ha (0,25 l/ha). Третман 0x, у сваком од огледа, представља контролу без примене хербицида. Након третирања земљиште се измеша ручно, а затим пренесе у мешалицу у којој се додатно меша у циљу што боље хомогенизације (5-7 минута при брзини од 60 о/минути). Третирано земљиште се затим распоређује у чаше (по три за свако појединачно понављање, запремине од 200 ml), након чега се засејава семеном наведених биљних врста. Након засејавања земљиште се залива (до пољског капацитета), а затим се судови одлажу у фитотрон, где ће се биљке развијати у контролисаним условима дужине трајања дана и ноћи (16^h/8^h), температуре (22°C дневна / 18°C ноћна) и интензитета светлости (300 µE/m²s). Током трајања огледа врши се редовно заливање, како би се одржавала одговарајућа влажност земљишта. Након периода од 10 до 14 дана (зависно од биљне врсте) врши се мерење свежје масе изданака, свих биљака за свако појединачно понављање сваког третмана. За сваку концентрацију раде се 4 понављања, а цео оглед се за сваку биљну врсту понавља два пута (два истоветна, независна огледа). У биотесту ће се мерити свежа маса изданака. Од свежих биљака узимаће се 0,1 g лисних исечака промера 5 mm, по сваком понављању сваког третмана за даље анализе (утврђивање садржаја пигмената).

Спектрофотометријско одређивање укупног садржаја пигмената (хлорофила *a*, хлорофила *b* и каротеноида)

Одређивање садржаја пигмената обавиће се методом екстракције диметил-формамидом (DMF). Са интактних листова биљака гајених у земљишту са одређеном концентрацијом мезотриона, узимаће се лисни исечци промера 5 mm до укупне масе од 0,1 g и убацивати у виалице са по 3 ml DMF -а. Екстракција пигмената обављаће се у мраку у току 24 часа на температури до 4°C. По завршеној екстракцији директно ће се читавати апсорпција екстракта на спектрофотометру (Libra S22, са опсегом од 190-1100 nm) на одређеним таласним дужинама: за хлорофил *a*- на 664 nm, за хлорофил *b*- на 647 nm и за каротеноиде на 480 nm.

За израчунавање концентрација пигмената у µg/ml користиће се формуле по Wellburn-у (1994):

$$\text{Хлорофил } a: c_a = 11,65A_{664} - 2,69A_{647} \quad [1]$$

$$\text{Хлорофил } b: c_b = 20,81A_{647} - 4,53A_{664} \quad [2]$$

$$\text{Каротеноиди: } c_k = (1000A_{480} - 0,89 c_a - 52,02 c_b) / 245 \quad [3]$$

За прерачунавање концентрације пигмената у mg/g свежје масе користиће се формула:

$$C = \frac{c \cdot V \cdot R}{m \cdot 1000} \quad [4]$$

у којој је: C – концентрација пигмената (mg/g)

c – концентрација пигмената (µg/ml)

V – укупна запремина екстракта

R – фактор разблажења (у случајевима када је екстракт разблаживан)

m – маса свежје материјала (g)

1000– фактор превођења µg у mg

Праћење динамике деградације мезотриона у пољу

Истраживања везана за праћење динамике деградације мезотриона у пољским условима обавиће се током две вегетационе сезоне на два локалитета: Голубац и Јаребице (околина Лознице). На овим локалитетима земљиште се разликује по текстури, садржају органске материје и pH вредности. У Голупцу је земљиште типа глинасте иловаче (29,64% песка, 27,76% глине и 42,60% праха; са 1,4% хумуса и pH 5,2). У Јаребицама је земљиште типа иловаче (43,64% песка, 18,44% глине и 37, 92% праха; са 1,45% хумуса и pH 3,78). Мезотрион ће бити примењен у две количине примене ((120 и 240 g a.s./ha (0,25 и 0,5 l/ha) уз додатак 0,5 % оквашивача), после ницања усева кукуруза (POST-EM). Количина примене од 120 g a.s./ha одговара препорученој (максималној) количини примене у пољу, а количина од 240 g a.s./ha симулира предозирање услед неадекватне примене, односно, преклапања прохода. Огледи ће бити постављени по типу потпуно случајног блок распореда, при чему ће сваки третман бити постављен у четири понављања. Величина елементарне парцеле износиће 5x5 m. Поред испитиваних третмана у оглед ће бити укључен и контролни третман-без примене хербицида. Узимање узорака земљишта вршиће се у одређеним временским интервалима: дан третирања, након 7, 14, 30, 60, 90, 150 330 и 360 дана од апликације, а зависно од временских прилика. Са сваке елементарне парцеле узимаће се узорци помоћу цилиндра промера 5 cm до дубине од 7,5 cm. Земљиште узето са сва четири понављања истог третмана спајаће се у композитни узорак. Након просејавања земљишта узорци ће се паковати у пластичне кесе, обележавати и одлагати у замривач (- 10°C) до даљих лабораторијских испитивања, како би се спречила микробиолошка и хемијска разградња остатака хербицида. По истеку сваке године испитивања композитни узорци земљишта биће подвргнути хемијској анализи (HPLC - *High-performance liquid chromatography* - метода течне хроматографије високих перформанси) у лабораторији, како би се утврдили остаци мезотриона у пољу.

Одређивање остатака мезотриона у земљишту LC-MS/MS методом

У циљу праћења/утврђивања динамике деградације мезотриона у пољу композитни узорци земљишта биће подвргнути хемијској анализи како би се утврдили остаци мезотриона. За детекцију остатака користиће се течна хроматографија са

масеном спектрометријом (LC-MS/MS). Користиће се мезотрион (чистоћа аналитичког стандарда 99,6%) и интерни стандард мезотрион d4 (чистоће 98%). За одређивање остатака пестицида у земљишту, као матриксу, потребно је формирати репрезентативни почетни узорак од 1 kg, који се до лабораторије транспортује у полиетиленским кесама и чува у замрзивачу до момента анализе. На почетку огледа узорци земљишта уситњавају се у авану, у циљу што боље хомогенизације. Узорци земљишта припремаће се по модификованој QuEChERS методи (Kaczynski et al., 2016), а за екстракцију ће се користити ацетонитрил и вода, у присуству соли. Валидација методе ће се радити према методи SANTE 11813/2017.

Статистичка обрада података

У биотесту у контролисаним условима, добијене вредности свеже масе изданака и садржаја пигмената статистички ће се обрадити, применом анализе варијансе, како би се утврдило да ли између испитиваних третмана постоје статистички значајне разлике, а затим ће се израчунати % инхибиције сваког од наведених параметара, са циљем утврђивања доза-одговор односа. За нелинеарну регресиону анализу добијених података користиће се најпогоднији облик log-logistic функције. Као компаративни показатељи осетљивости биљних врсти израчунаће се EC_{50} , вредности. Такође ће се израчунати EC_{20} и EC_{10} као граничне вредности нивоа остатака који се могу сматрати прихватљивим за безбедну сетву/расађивање испитиваних биљних врста (са оценом значајности, за све мерене параметре који испоље зависност од концентрације). Уколико неки од параметара не покаже доза-одговор однос урадиће се тест за утврђивање значајности разлика испољених одговора.

У огледима праћења динамике деградације израчунаће се полуживот (DT_{50}) мезотриона (као показатељ перзистентности) за обе количине примене, на два типа земљишта и у две вегетационе сезоне. Примениће се одговарајући регресиони модел, уз израчунавање коефицијента детерминације (R^2) као показатеља прилагођености изабраног модела. Такође ће се одредити концентрације хербицида присутне у земљишту у различитим временским интервалима до годину дана након примене за све третмане. Добијени резултати обрадиће се статистички у Microsoft Excel-у, односно израчунаће се средње вредности, стандардне девијације и релативне стандардне девијације. За формирање квалитативног и квантитативног извештаја користиће се одговарајући програми-Agilent MassHunter Workstation Qual и Quant.

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

Милена (Сладоје) Радивојевић (рођена Јовановић) рођена је 15.06.1990 године у Пожаревцу. Након завршетка средње школе, школске 2009/10. године уписала је Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду, одсек Фитомедицина. Основне академске студије завршила је октобра 2013. године одбраном дипломског рада под називом: “Испитивање ефикасности дифлуфеникана (SOLARIS) у сузбијању корова у усевима пшенице и сунцокрета”. Школске 2013/2014. године, на истом факултету на одсеку за Фитомедицину, уписала је мастер студије, које завршава октобра 2014. године одбраном мастер рад под насловом “Фитотоксичност остатака темботриона за соју као наредну биљку у плодореду”, са просечном оценом 9,88. Школске 2014/15. године, такође на истом факултету, уписује докторске студије на смеру Пољопривредне науке, модул Фитомедицина.

Током докторских студија на Катедри за пестициде ангажована је у лабораторији за пестициде, где, осим рада на изради своје докторске дисертације, учествује и у другим истраживачким активностима која се односе на узврђивање остатака пестицида у земљишту и биљном материјалу. Такође, учествује у извођењу вежби из предмета Фитофармација – Хербициди и Основи селективности и фитотоксичности пестицида (на одсеку за Фитомедицину), делу вежби из предмета Општа фитофармација и Основи резистентности на пестициде (одсека за Фитомедицину) и извођењу вежби на предмету Фитофармација (на одсеку за Ратарство и повртарство). Током 2015/2016. године, постала је стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, и распоређена је на пројекту евиденциони бр. ИИИ 46008 у оквиру научне дисциплине Биотехнологија и пољопривреда, под руководством ментора проф. др. Саве Врбничанин, редовног професора Пољопривредног факултета, Универзитета у Београду. Као истраживач приправник од 10.05.2018. запослена је на одређено време у оквиру пројекта на коме је ангажована. До сада је објавила/саопштила 6 научних радова. Члан је Друштва за заштиту биља Србије и Херболошког друштва Србије. Говори енглески језик, а служи се и руским језиком.

9. Закључак и предлог

На основу чињеница изнетих у пријави докторске дисертације Милене Радивојевић, мастер 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 да ће се: (1) утврдити ниво осетљивости биљака лиснатог (салата, спанаћ, блитва и ендивија) поврћа и купусњача (купус, карфиол, броколи и уљана репица) на остатке мезотриона у раним фазама развића, у контролисаним условима, (2) утврдити деловање различитих концентрација мезотриона на морфолошке (свежа маса изданака) и физиолошке параметре (садржај каротеноида и хлорофила у котиледоним или првим правим листовима) испитиваних биљних врсти, (3) утврдити брзина и динамика деградације мезотриона у земљишту, у пољским условима, у два типа земљишта, при различитим количинама примене и током две вегетационе сезоне и (4) одредити ниво остатака мезотриона у земљишту у

различитим временским интервалима након извршеног третирања, па до годину дана након примене и (5) на основу свих добијених резултата моћи одредити временски интервали (после примене мезотриона) након којих је могућа безбедна сетва/расађивање сваке од испитиваних биљних врста.

Истраживања ове врсте су малобројна у нашој земљи и очекује се да ће добијени резултати поред научног значаја имати и велику практичну вредност у смислу да ће на основу утврђених ЕС вредности бити могуће дати препоруку пољопривредним произвођачима шта могу сејати као пострни усеви у нормалном плодореду након кукуруза у наредној години, или, у истој години након кукуруза гајеног за силажу. Такође, и у истој сезони у случају пропадања и пресејавања усева кукуруза. На основу свега изнетог постоје реалне основе за мишљење да предложена тема пружа сигурне могућности 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 Милене Радивојевић, мастер инж., под насловом **"Осетљивост лиснатог поврћа и купусњача на резидуално деловање мезотриона"**. Комисија предлаже за ментора при изради ове докторске дисертације др Саву Врбничанин, ред. проф. Пољопривредног факултета Универзитета у Београду.

Београд, 29.01.2019. година

Чланови Комисије:

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

др Катарина Јовановић-Радованов, доцент
Пољопривредног факултета
Универзитета у Београду
(ужа научна област: Пестициди)

др Љиљана Радивојевић, виши научни сарадник
Институт за пестициде и животну средину
Земун-Београд
(ужа научна дисциплина: Фитофармација)

Прилог 1

Списак кључних референци које оправдавају избор теме

1. Barchanska, H., Kluza, A., Krajczewska, K. and Maj, J. (2015): Degradation study of mesotrione and other triketone herbicides on soil and sediments. *Journal of Soils and Sediments*, 16(1): 125-138.
2. Beaudegnies, R., Edmunds, A. J. F., Fraser, T. E. M., Hall, R. G., Hawkes, T. M., Mitchell, G., Shaetzer, J., Wendeborn, S. and Wibley, J. (2009): Herbicidal 4-hydroxy phenylpyruvate dioxygenase inhibitors. – A review of the triketone chemistry story from a Syngenta perspective. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17: 4134-4152.
3. Chen, X., Li, W., Wu, Q., Chen, W. and Han, I. (2012): Dissipation and residues of the herbicides mesotrione in maize and soil in open field. *B Environ. Contam. Tox.*, 88, (5): 772-775.
4. Creech, J., Monaco, T. and 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: 1079-84.
5. Felix, J., Doohan, D. J. and Bruins, D. (2007): Differential vegetable crop responses to mesotrione soil residues a year after application. *Crop Protection*, 26: 1395-1403.
6. Gantoli, G., Rueda-Vayala, V. and Gerhards, R. (2013): Determination of the critical period for weed control in corn. *Weed Technology*, 27: 63-71.
7. EC (2017): Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. *SANTE/11813/2017*: 1-46.
8. Kaczynski, P., Lozowicka, B., Hrynko, I. and Wolejko, E. (2016): Behaviour of mesotrione in maize and soil system and its influence on soil dehydrogenase activity. *Science of the Total Environment*, 571: 1079-1088.
9. Maeghe L., Eelen, H. and Bulcke, R. (2002): Soil persistence of 4-HPPD-inhibitors in different soil types. *Mededelingen - Faculteit Landbouwkundige En Toegepaste Biologische Wetenschappen, Universiteit Gent*, 67: 383-391
10. Nurse, R. E., Hamill, A. S., Swanton, C. J., Tardif, F. J. and Sikkema, P. H. (2010): Weed control and yield response to mesotrione in maize (*Zea mays*) crop. *Crop Protection*, 29: 652-657.
11. Pang, N., Wang, P. T. and Hu, J. (2016): Method validation and dissipation kinetics of four herbicides in maize and soil using QuEChERS sample preparation and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 190: 793-800.
12. Pose-Juan, E., Sanchez-Martin, J. M., Herrero-Hernandez, E. and RodriguezCruz, M. S. (2015): Application of mesotrione at different doses in an amended soil: dissipation and effect on the soil microbiak biomass and activity. *Science of the Total Environment*, 536: 31-38.
13. Riddle, R. N. (2012): Field and Greenhouse Bioassays to Determine Rotational Crop Response to Mesotrione Residues. A Thesis presented to The University of Guelph, pp. 1-102. <https://atrium.lib.uoguelph.ca/xmlui/bitstream/handle/10214/3321/Thesis%20-%20Rachel%20Riddle%202012%20final.pdf?sequence=6>
14. Robinson, D. E. (2008): Atrazine Accentuates Carryover Injury from Mesotrione in Vegetable Crops. *Weed Technology*, 22: 641-645.
15. Rouchaud, J., Neus, O., Eelen, H., and Bulcke, R. (2000): Dissipation and mobility of the herbicide mesotrione in the soil of corn crops. *Mededelingen-faculteit landbouwkundige en toegepaste biologische wetenschappen*, 65:51-58.
16. Sekutowski, T. (2011): Application of Bioassays in Studies on Phytotoxic Herbicide Residues in the Soil Environment. In: Kortekamp, A. (Ed.), *Herbicides and Environment*,

pp.12-272. InTech <https://www.intechopen.com/books/herbicides-and-environment/application-of-bioassays-in-studies-on-phytotoxic-herbicide-residues-in-the-soil-environment>

17. Shaner, D., Brunk, G., Nissen, S., Westra, P. and Chen, W. (2012): Role of soil sorption and microbial degradation on dissipation of mesotrione in plant-available soil water. *Journal of Environmental Quality*, 41(1): 170-178.
18. Soltani, N., Sikkema, P. H. and Robinson, D. E. (2007): Response of four market classes of dry bean to mesotrione soil residues. *Crop Protection*, 26: 1655-1659.
19. Tursun, A., Datta, A., Sakinmaz, M. S., Kantarci, Z., Knezevic, S. Z. and Chauhan, B. S. (2016): The critical period for weed control in three corn (*Zea mays* L.) types. *Crop Protection*, 90: 59-65.
20. Wellburn, A. R. (1994): The Spectral Determination of Chlorophylls *a* and *b*, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. *Journal of Plant Physiology*, 144: 307-313.

Прилог 2

Списак саопштених и објављених научних и стручних радова:

1. Јовановић-Радованов, К., **Радивојевић, М.**, и Стојановић, Б. (2018): Селективност имазамокса за усев луцерке. *Acta herbologica*, 27(2), стр. 137-147.
2. Јовановић-Радованов, К. и **М. Јовановић** (2016): Фитотоксичност фолијарно примењеног имазамокса за грашак у коме су примењени земљишни хербициди. *Acta herbologica*, 25(2): 35-44.
3. Јовановић-Радованов К., Шпировић Трифуновић, Б., **Радивојевић, М.**, Цвјетиновић, С. и Бркић, Д. (2018): Безбедност примене *fluazifor-P-butyla* у засадима малине и купине. XV Саветовање о заштити биља, зборник резимеа радова, Златибор, стр. 89-90.
4. Јовановић- Радованов, К., **Јовановић, М.** и Маћерак, М. (2017): Осетљивост уљане репице (*Brassica napus ssp. oleifera*) на резидуално деловање мезотриона. Зборник резимеа радова XIV Саветовање о заштити биља, Златибор, стр. 103.
5. Јовановић-Радованов, К., **Јовановић, М.** и Ивковић, Н. (2016): Могућност коришћења слачице као тест биљке за утврђивање остатака мезотриона у земљишту биотестом. Зборник резимеа радова XV Симпозијума о заштити биља, Златибор, стр. 53-54.
6. Јовановић-Радованов, К., Божић, Д., **Јовановић, М.**, Савић, А., и Врбничанин, С. (2016): Могућност сузбијања дивљег овса (*Avena fatua* L.) у условима екстремне бројности. Десети конгрес о коровима, зборник резимеа, Врдник, стр. 72.

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, Đ., 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.

Ментор треба да има **пет радова** (референци) које га, по оцени Већа научних области, квалификују за ментора односне дисертације.