

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број захтева: 290/3-6.1.
Датум: 24.12.2014. године

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији за кандидата магистра наука који брани дисертацију према ранијим прописима

Молимо да, сходно члану 47. став 5. тачка 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11 - пречишћени текст, 167/12 и 172/13), дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији:

Кандидат **мр ИЛИНКА (Милан) ПЕЋИНАР**, пријавила је докторску дисертацију под називом: „МОРФО-АНАТОМСКА И ЦИТОЛОШКА АНАЛИЗА ПЛОДА ПАРАДАЈЗА ТОКОМ РАЗВОЈА У УСЛОВИМА СУШЕ“.

из научне области Ратарство.

Универзитет је 07.12.2011. године, својим актом број 06-8226/16 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: „МОРФО-АНАТОМСКА И ЦИТОЛОШКА АНАЛИЗА ПЛОДА ПАРАДАЈЗА ТОКОМ РАЗВОЈА У УСЛОВИМА СУШЕ“.

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 29.10.2014. године, одлуком Факултета број 290/1-8.1., у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област, установа у којој је запослен

1. др Радмила Стикић, редовни професор, Физиологија гајених биљака, Пољопривредни факултет Универзитета у Београду, у пензији од 01.10.2014.
2. др Драгана Ранчић, доцент, Пољопривредна ботаника, Пољопривредни факултет Универзитета у Београду,
3. др Софија Пекић Quaglie, редовни професор, Експериментална ботаника, Државни универзитет у Новом Пазару,
4. др Соња Дулетић Лаушевић, ванредни професор, Морфологија, фитохемија и систематика биљака, Биолошки факултет Универзитета у Београду,
5. др Дубравка Савић, ванредни професор, Повртарство, Пољопривредни факултет Универзитета у Београду,

Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 24.12.2014. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА
Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 290/3-6.1.
Датум: 24.12.2014. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 84. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 24.12.2014. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднела **мр ИЛИНКА ПЕЋИНАР** и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: „**МОРФО-АНАТОМСКА И ЦИТОЛОШКА АНАЛИЗА ПЛОДА ПАРАДАЈЗА ТОКОМ РАЗВОЈА У УСЛОВИМА СУШЕ**“.

II Универзитет је 07.12.2011. године, својим актом број 06-8226/16 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у часопису међународног значаја:

Rančić, D., Pečić Quarrie, S., Radošević, R., Terzić, M., **Pećinar, I.**, Stikić, R., Jansen, S. (2010): The application of various anatomical techniques for studying the hydraulic network in tomato fruit pedicels, Protoplasma 246 (1-4): 25-31.

**П Р Е Д С Е Д Н И К
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
Д Е К А Н**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору др Радмили Стикић, редовном професору у пензији, Институту за ратарство и повртарство, Студентској служби и архиви.

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

Датум: 31.10.2014.

**Предмет: Извештај комисије за оцену урађене докторске дисертације
мр Илинке М. Пећинар**

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду од 29.10.2014. године, именовани смо у Комисију за оцену урађене докторске дисертације под насловом **“Морфо-анатомска и цитолошка анализа плода парадајза током развоја у условима суше”**, кандидата мр Илинке М. Пећинар, па пошто смо проучили завршену докторску дисертацију, подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација мр Илинке М. Пећинар, под насловом “Морфо-анатомска и цитолошка анализа плода парадајза током развоја у условима суше”, написана је на 227 страница куцаног текста (1,5 прореда) и састоји се из следећих поглавља: Увод (1-5. стр.); Преглед литературе (6-30. стр.); Научни циљ истраживања (31. стр.); Материјал и методе (32-39.стр.); Резултати (40-148.стр.); Дискусија (149-190.стр.); Закључак (191-195.стр.); Литература (196-222.стр.); Биографија аутора (223. стр.); Прилог 1. Изјава о ауторству (224. стр.); Прилог 2. Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације (225. стр); Прилог 3. Изјава о коришћењу (226. стр); Ауторство (227. стр). Дисертација садржи 120 слика, 86 табела, 339 референци и Резиме на српском и енглеском језику.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Увод

У Уводу ове докторске дисертације је наглашено да је суша један од фактора спољашње средине који у највећој мери може да утиче на растење и развиће биљака, а да код многих пољопривредних култура, као што је нпр. парадајз, у значајној мери умањује принос. У последњих неколико деценија, једна од могућих опција за превазилажење последица суше на биљке је употреба метода дефицита наводњавања названих регулисани дефицит заливања (енг. Regulated Deficit Irrigation, DI) и метода делимичног сушења зоне корена (енг. Partial Root-zone Drying, PRD). Указано је да због значаја ових метода за уштеду воде за наводњавање, у литератури постоји доста истраживања ефеката на физиолошке, биохемијске и молекуларне процесе као и на принос различитих култура. Наглашено је да још увек није довољно проучен ефекат суше и метода дефицита заливања на грађу плода, анатомске карактеристике перикарпа и развој ћелија перикарпа, а што је од фундаменталног значаја за

разумевање ефекта ових фактора на принос парадајза. Стога су цитолошка и хистолошка испитивања утицаја ових третмана на плодове парадајза била предмет ове докторске дисертације.

2.2. Преглед литаратуре

Преглед литературе садржи 5 потпоглавља са адекватним литературним изворима из области проучавања ове докторске дисертације. Кандидат је у првом потпоглављу Прегледа литературе укратко истакао порекло и значај производње парадајза као повртарске биљке у свету и на подручју Републике Србије. У другом потпоглављу **Морфо-анатомске карактеристике вегетативних и генеративних органа парадајза** је укратко објашњена морфологија раста вегетативних органа, док је већи део овог потпоглавља посвећен објашњењу порекла и развоја генеративних органа парадајза. У трећем потпоглављу је детаљно објашњен **Развој и анатомска грађа плода парадајза**, са посебним освртом на најважније фазе у развоју плода и анатомску грађу делова плода (перикарпа, плаценте, семена). У потпоглављу **Морфо-физиолошки процеси и хормонална контрола** кандидат је указао на значај дејства различитих биљних хормона, који утичу на процесе деобе и раста ћелија. У том поглављу посебно је објашњена улога биљног хормона абсцисинске киселине (АБА) која је од кључног значаја за реакције на стресне услове средине. Посебан осврт је дат и на савремена испитивања АБА мутанта *flacca* који је као материјал коришћен у овој дисертацији. У четвртном потпоглављу **Ефекти суше и адаптивни механизми биљака**, кандидат је дао преглед савремених испитивања реакција биљака на водни дефицит као и адаптивних реакција биљака на овај стресни фактор. У последњем потпоглављу прегледа литературе, **Примена метода редукованог наводњавања код парадајза**, детаљно су приказана савремена сазнања о техникама контролисане суше (PRD и DI) коришћеним у овим истраживањима.

2.3. Циљ

Научни циљ ове докторске дисертације је био да се детаљно проуче морфо-анатомски и цитолошки процеси који су у основи растења и развића плодова парадајза у оптималним условима водног режима и под дејством водног дефицита. Циљ је био и да се испита ефекат метода редукованог наводњавања на структуру плода, анатомске карактеристике перикарпа и развој ћелија перикарпа, а што је од значаја за разумевање ефекта ових метода на растење и развој плодова парадајза. У ова истраживања поред сорте Ailsa Craig је био укључен и мутант *flacca*, што је имало за циљ да се утврди како се недостатак хормона АБА код *flacca*, кључног за реакције биљака на сушу, одражава на развој и морфо-анатомску грађу плодова парадајза.

2.4. Материјал и методе

У поглављу **Материјал и методе** приказан је опис експерименталног система који је коришћен у овој дисертацији. Експериментални део истраживања изведен је на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, у фитотронској комори, у три понављања у току 2009., 2010. и 2011. године. За истраживања су коришћени сорта Ailsa Craig и АБА мутант *flacca*. Биљке су гајене из семена у комерцијалном компосту (Potground H, Klasmann-Deilmann, Germany) у контролисаним условима са фотопериодом од 14 часова, осветљеношћу (PAR) $300 \mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$, температуром

25/18°C и релативном влажношћу ваздуха од 70%. Примењена су следећа три третмана: оптимално наводњавање (енг. full irrigation-FI), регулисани дефицит наводњавања (енг. Regulated Deficit Irrigation-DI) и делимично сушење коренова (енг. Partial Root-zone Drying-PRD). Код оптимално заливаних биљака цео коренов систем је заливан до садржаја воде близу оптималног водног капацитета супстрата (запремински садржај воде од 35%), код биљака изложених дефициту наводњавања заливан је такође цео коренов систем, али до садржаја воде од 15-20%. Код биљака изложених делимичном сушењу зоне корена, је заливана само једна страна кореновог система тако да садржај воде буде близу оптималног водног капацитета супстрата (садржај воде од 35%), док се друга страна кореновог система исушивала. Замена страна је вршена када садржај воде у незаливаној страни падне испод 15-20% и тако наизменично до краја огледа. Садржај воде у супстрату је мерен помоћу TDR пробе (Time domain reflectometer, TRASE, Soil Moisture Equipment Corp., USA) сондама дужине 20 cm које су биле постављене у средину сваког одељка саксије или помоћу тета пробе (ML2X, Delta-T Device, Ltd, UK). Од морфолошких параметара плода парадајза мерени су пречник плодова (дигиталним нонијусом), на основу тих вредности је прерачуната брзина раста плода у mm/дану, а мерени су и свежа и сува маса плода, као и свежа маса перикарпа плодова. Сува маса плодова је добијена сушењем плодова у сушници на 85°C током 24-48 часа.

За мерење анатомских параметара раста плода узимани су узорци плодова са треће или пете цветне гране и праћени су: укупна дебљина и број слојева ћелија перикарпа, егзокарпа, мезокарпа и ендокарпа. Пресеци плодова за светлосну микроскопију су припремљени према стандардној парафинској процедури. Добијени пресеци су посматрани светлосним микроскопом Leica DM1000, снимани дигиталном камером (Leica DC 300), помоћу софтверског пакета Leica IM 1000. Величина ћелија перикарпа је мерена са анатомских пресека плодова коришћењем софтверског пакета Image J или Image pro plus, Media cybernetics, Bethesda, USA. Појединачна величина ћелија перикарпа на анатомским пресецима је рачуната коришћењем алатке софтверског пакета Image J, након ручно подешеног прага сегментације. Да би се анализирали ефекти третмана наводњавања на раст и развој перикарпа праћена је величина ћелија у оквиру појединих слојева перикарпа. Употреба алатке Image J, Roi color coder, омогућила је сликовито представљање разлика у величини ћелија перикарпа, мерење обима, површине и пречника појединачних ћелија перикарпа. Перикарп плодова је анализиран најсавременијом методом у анатомији за бројање ћелија, где су оне мацерирани у раствору пектиназе (0.05M EDTA+ 0,4 M манитол и пектиназе из *Aspergillus niger*, ~1 U/ml). Ћелије су узорковане из раствора пектиназе и бројане помоћу микроскопа LEICA DMLS коришћењем хемцитометријских комора за бројање ћелија (Fuchs-Rosenthal комора 0.2 mm дубине и Bürker комора 0.1 или 0.2 mm дубине за бројање ћелија перикарпа мањих плодова).

Анатомска истраживања обављена су у Лабораторији за хистологију, Микроскопској лабораторији и Лабораторији за агрохемију и физиологију биљака Пољопривредног факултета, као и у лабораторијама ИНРА института, Planntes et Systemes de Cultures Horticoles у Авињону, Француска и Biologie du Fruit et Pathologie, Бордо, Француска, током 2009., 2011. и 2012. године.

Експериментални подаци су анализирани одговарајућим статистичким програмима (Sigma Plot 6.0 for Windows - SPW 6.0, Jandel Scientific, Erckhart, Germany,

Microsoft Excel Version 2002. и Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., 2007), а примењени су тестови: двофакторијалне анализе варијансе (ANOVA), LSD тест, кластер анализа и кореспондентна анализа.

2.5. Резултати

Резултати су написани концизно и јасно и документовани прегледним табелама, графиконима и сликама. Поглавље **Резултати** је подељено у 5 потпоглавља. Прво потпоглавље је **Садржај воде у супстрату** у коме су представљени резултати мерења динамике садржаја воде у супстрату у коме су гајене биљке Ailsa Craig и *flacca*. Ови резултати су показали да су потребе биљака за водом биле код *flacca* за 15% мање у поређењу са Ailsa Craig. У току PRD третмана код оба генотипа утрошено је 30% мање воде од услова контроле, а у условима DI код генотипа Ailsa Craig утрошено је 40% мање воде, а код генотипа *flacca* 75% мање воде у поређењу са оптимално заливаним биљкама. У оквиру потпоглавља **Морфолошка анализа и развој плода парадајза** је приказано да у условима оптималног заливања, код већине морфолошких особина плодова постоје значајне разлике између генотипова. Према резултатима двофакторске анализе варијансе код генотипа *flacca* су пречник, свежа и сува маса плода, брзина раста плода, маса перикарпа и плаценте са семенима значајно мањи у поређењу са плодовима Ailsa Craig (просечно за 30%). Генотипске разлике су се испољиле и под утицајем PRD и DI третмана јер код Ailsa Craig биљака PRD третман, у поређењу са FI третманом, нема утицаја на пречник, свежу и суву масу плода, масу перикарпа и плаценте са семенима, однос масе перикарпа и масе плода. Међутим, ефекти на процесе растења плодова (смањење просечно за 20%) и пречник плодова (за просечно 20%) и њихову коначну свежу масу (за просечно 17%) су се испољили у условима DI третмана. Резултати за мутант *flacca* су показали да се у третману PRD повећава брзина раста плода код *flacca* у односу на FI биљке, а исти третман не утиче на пречник, свежу и суву масу плода, масу перикарпа и суву масу плода. У DI третману пречник и маса плода и брзина раста су мањи, исти третман код *flacca* не утиче на масу перикарпа и масу плаценте са семенима и суву масу плода. У овом раду код морфолошких параметара раста плода примећена је велика сличност PRD третмана код *flacca* са свим третманима, а посебно PRD и DI код Ailsa Craig биљака у особинама као што је дебљина егзокарпа и број слојева ћелија мезокарпа и перикарпа. У оквиру потпоглавља **Анатомска анализа и развој перикарпа плода парадајза** резултати су показали да у условима оптималног заливања постоје велике генотипске разлике у анатомским особинама плода између Ailsa Craig и *flacca*. Дебљина перикарпа, мезокарпа и ендокарпа је значајно већа код Ailsa Craig у поређењу са *flacca* (за просечно 30%), док утицај генотипа није забележен на дебљину егзокарпа плода. Према резултатима Fisher LSD теста статистички је значајан ефекат DI и PRD третмана на коначну дебљину перикарпа и свих његових саставних делова (мезокарпа, егзокарпа и ендокарпа) код оба генотипа. У оквиру потпоглавља **Цитолошка анализа перикарпа током развоја плодова** резултати су показали да на број и величину ћелија перикарпа значајно утиче генотип, тако да плодови Ailsa Craig имају значајно мањи број ћелија и ситније ћелије перикарпа у поређењу са генотипом *flacca*. То је потврђено применом две методе за анализу ћелија (ћелија мацерираних и ћелија мерених са попречних пресека). Површина, обим и пречник ћелија су значајно мањи код генотипа *flacca* у обе поменуте методе. Код Ailsa Craig утицај PRD третмана

на број ћелија је примећен само код плодова близу фазе зрења, док је утицај овог третмана на површину, обим и пречник ћелија перикарпа забележен већ од 10. дана после цветања и то применом обе методе мерења величине ћелија. Код Ailsa Craig у DI третману забележен је мањи броја ћелија у поређењу са FI, док је величина ћелија значајно мања већ од 10. дана после цветања. Код *flacca* у PRD третману је забележен мањи број ситнијих ћелија перикарпа у поређењу са FI. Код *flacca* није забележен утицај DI третмана на број ћелија перикарпа, док су површина, обим и пречник ћелија значајно мањи већ од 20. дана после цветања, што је потврђено помоћу обе примењене методе. У потпоглављу **Површина ћелија по слојевима перикарпа, мереним са анатомских пресека** дата је детаљна анализа развоја перикарпа код Ailsa Craig и *flacca* као и утицај третмана редукованог заливања на њихов развој код оба генотипа. Ова цитолошка анализа показује динамику развоја ћелија у плоду парадајза. У овом поглављу је указано на то да је у почетним фазама развоја (до 12. дана после цветања) код оба генотипа величина ћелија унутар слојева перикарпа хомогена. Већ од 12. дана после цветања, величина ћелија већине централно постављених слојева перикарпа убрзано расте док спољашњи епидермски слој и ендокарп (унутрашњи епидермски слој), као и слојеви непосредно испод њих (E2 и I2) остају до фазе зрења плода грађени од ситнијих ћелија. Први формиранни ћелијски слојеви перикарпа (E2a, E2b и I2a, I2b) први почињу да расту, а ћелије које их граде најраније достижу максималну величину. Након тога се формирају ћелијски слојеви од E2 и I2 (E2c до E2j и I2c до I2f). Уколико се сви слојеви настали од E2 и I2 слоја сагледају јасно је да је просторна дистрибуција асиметрична: више слојева ћелија се формира од спољашњег субепидермског слоја (E2) дајући спољашњи део перикарпа, него од унутрашњег субепидермског слоја (I2) који ће формирати унутрашњи део перикарпа. Ћелије које чине унутрашњи субепидермски слој (I2) расту брже него оне које чине спољашњи субепидермски слој (E2). Код генотипа *flacca*, шаблон просторне дистрибуције величине ћелија је сличан као код Ailsa Craig, осим што је током развоја плода раст ћелија лимитиран тако да је величина ћелија у свим слојевима перикарпа мања, и формира се мањи број слојева перикарпа у поређењу са Ailsa Craig. У фази зрелог плода у FI третману уочене су значајне разлике у величини ћелија између Ailsa Craig и *flacca* у свим слојевима перикарпа. Величина ћелија је већа у унутрашњим него у спољашњим слојевима, код *flacca* је два до три пута мања него код Ailsa Craig (нпр. E2b код Ailsa Craig и *flacca* 66754,5 и 28544,5 μm^2) и око два пута мања у унутрашњим слојевима (нпр. I2b код Ailsa Craig и *flacca* 55807,9 и 26968,9 μm^2). У оквиру овог поглавља је указано на то да се код Ailsa Craig, највећи утицај третмана редукованог заливања испољава на величину перикарпа и то на централно постављене слојеве E3, E4 и I3, а након тога и на слојеве E2a, E2b, I2a и I2b. Негативни ефекти третмана редукованог заливања (PRD или DI) на величину ћелија су најоучљивији у фази зрелог плода у спољашњим деловима перикарпа, тј. слојевима од E2a до E2f. Резултати овог дела истраживања указују да код *flacca* у PRD третману ћелије перикарпа достижу сличну коначну величину као у FI код већине слојева ћелија, док у DI третману ћелије унутар свих слојева током развоја плода расту спорије и достижу мању величину у односу на FI третман.

2.6. Дискусија

У поглављу *Дискусија*, резултати истраживања су на адекватан начин разматрани и коментарисани у односу на резултате других аутора. Ова веома исцрпна дискусија је подељена у више целина у складу са резултатима испитиваних експерименталних система. Прво су анализирани резултати који се односе на динамику промене количине воде у супстрату у односу на доступне литературне податке. Посебно су разматрани подаци који се односе на начине заливања биљака у условима поља и при гајењу у контролисаним условима заливања, критеријуме који се користе за учесталост промене страна у PRD третману, разлике у садржају воде у PRD и DI третману у поређењу са FI. Оно што треба истаћи је да су у потпоглављима која се односе на развиће и анатомску анализу плода сорте Ailsa Craig у оптималним условима, условима делимичног сушења коренова и дефицита наводњавања дискутовани резултати са циљем да се објасне анатомске основе растења и развића плодова у овим третманима. На основу ових резултата се објашњава промена величине и масе плодова, масе перикарпа, дебљине свих делова перикарпа, као и величине и броја ћелија свих слојева перикарпа. С обзиром на то да је, са анатомске тачке гледишта, коначна величина плода резултат збира раста различитих типова ткива од којих је плод сачињен, мерење параметара који указују на величину ћелија и ткива је неопходно за разумевања развоја плода, због чега је кандидат посебно дао осврт на процесе деобе ћелија и раста који су кључни у контроли коначне величине плода. Од коначне величине и масе плодова зависи принос биљака у условима примене метода редукованог наводњавања те су стога испитивања ових процеса од посебног значаја. Раст површине ћелија перикарпа током фазе деобе ћелија подразумева период од 3. до 20. дана после цветања, где просечна површина ћелија перикарпа расте од $228 \mu\text{m}^2$ на $35.000 \mu\text{m}^2$. Резултати ове студије указују да ћелије достижу 22–31% коначне површине током фазе деобе ћелија, а 69–78% током фазе раста ћелија. Тај укупни раст ћелија перикарпа доприноси да се у овој студији дебљина перикарпа Ailsa Craig, од фазе потпуно отвореног цвета до зрелог плода, повећава 69,4 пута (од 80 до $5553 \mu\text{m}$). Раст перикарпа је пре свега резултат раста ћелија мезокарпа које према литературним подацима представљају циљне одреднице плода за складиштење асимилата, па су с тим у вези представљене крупним ћелијама које највише доприносе величини перикарпа. Ова студија је показала да на укупни развој перикарпа највише утиче развој појединачних слојева перикарпа, тј. слојева који потичу од слоја E2 (и то пре свега слојева од E2a до E2e), E3 и E4, а који припадају мезокарпу. Раст ћелија у овом делу перикарпа је регулисан хормонима и то ауксинима, гиберелинима и АБА. Резултати и подаци из литературе указују и да осим раста ћелија велики значај у постизању коначне величине перикарпа имају и периклиналне деобе ћелија у спољашњим субепидермским слојевима, које једино могу да доведу до повећања броја слојева. Осим периклиналних деоба ћелија, у перикарпу се након 20. дана после цветања дешавају и насумице оријентисане деобе ћелија, присутне су у већини слојева перикарпа и прате раст и развој перикарпа и плода и тиме доприносе укупном расту перикарпа и плода. Поређење резултата раста плода у условима водног дефицита са доступним литературним подацима указују на то да је у већини PRD експеримената редукација приноса била незнатна, и да више доступних асимилата током дужег трајања фазе експоненцијалног раста код плодова у PRD доводи до формирања крупнијих плодова, али пресудну улогу има и капацитет самог плода да привуче асимилате. Испитивања асимилата нису предмет испитивања ове дисертације,

али литературни подаци указују да капацитет плода зависи од броја и величине ћелија плода, чије су вредности према резултатима ове дисертације, током највећег периода развоја плода слични у PRD и FI третманима. У свом експерименту кандидат указује да је маса перикарпа зрелог плода код Ailsa Craig иста у PRD и FI третману, иако је у PRD утврђена значајна редуција дебљине перикарпа и свих његових делова од 20. дана после цветања па до фазе зрелих плодова где је забележена редуција дебљине перикарпа за 8% у односу на FI. Кандидат тумачи да је смањење дебљине перикарпа у PRD третману резултат смањења коначног броја ћелија перикарпа за 20% и смањење површине ћелија за 8%. Третмани редукованог заливања доводе до редуције свих делова перикарпа, а нарочито утичу на смањење дебљине мезокарпа и броја слојева мезокарпа за 8% у PRD. Иако у овим морфо-анатомским испитивањима нису мерени параметри који указују на водни режим биљака, маса, пречник плода и количина воде којом су се биљке заливале указују на то да су биљке у DI третману биле изложене значајном степену стреса у односу на остале третмане. Ови резултати су такође показали и да је број ћелија перикарпа и његових слојева значајно мањи у поређењу са FI, што указује на то да је овај вид водног дефицита утицао на процес деобе ћелија унутар перикарпа. Код већине слојева који припадају спољашњем перикарпу утицај DI третмана на смањење величине ћелија се углавном утврдио у фази зрелог плода, и последица је тога што је раст ћелија раније престао него у FI третману. У дискусији је даље вршена анализа развића и анатомских карактеристика свих параметара плода генотипа *flacca* у поређењу са Ailsa Craig, са посебним освртом на могућу улогу АБА у процесима који доприносе укупном расту плода парадајза. Оно што треба посебно истаћи је да постоји мали број доступних литературних података који указују на раст плодова у таквим условима гајења. Кандидат указује на позитивни ефекат PRD третмана на величину зрелих *flacca* плодова и масу перикарпа, иако PRD третман код *flacca* доводи до смањења коначног броја ћелија перикарпа за око 20% што резултује тањим перикарпом за 15%. Негативни утицај DI третмана на раст ћелија је био израженији код *flacca* него код Ailsa Craig, а до њега је дошло већ током ране фазе деобе ћелија што је допринело редуцији коначне величине плода. Пошто је мутант *flacca* дефицитаран у концентрацији стрес хормона АБА ови резултати указују на значај хормона АБА и за деобу и раст ћелија плода парадајза од које зависи и његова коначна величина.

2.7. Закључци

На основу добијених резултата кандидат је у поглављу **Закључци** извео 15 закључака који су правилно изведени, јасно таксативно наведени и у потпуности проистичу из резултата рада ове дисертације. На основу добијених резултата кандидат је извео закључке којима су остварени циљеви и потврђене хипотезе докторске дисертације.

Кандидат закључује да се деоба ћелија у плодовима оптимално заливаних биљака Ailsa Craig прекида у периоду од 10-20. дана после цветања, када плодови достижу 10% од своје коначне масе. Након ове фазе почиње фаза убрзаног раста плода се огледа значајним повећањем величине плода, масе плаценте и масе перикарпа и која траје до 42. дана после цветања. Затим следи фаза која резултира коначном величином плодова, када се дешава сазревање плодова. Морфо-анатомска испитивања ћелија перикарпа су показала да ћелије плода сорте Ailsa Craig у FI третману достижу 22–31% коначне

површине током фазе деобе ћелија, а 69–78% током фазе раста ћелија. Сличан тренд раста утврђен је и за параметре обима и пречника ћелија, а најинтензивнији раст забележен је од 12. до 20. дана после цветања, када су се обим и пречник ћелија увећали за око 20 пута. Резултати су показали да је перикарп код Ailsa Craig изграђен од просечно 7 иницијалних слојева који чине унутрашњи и спољашњи део перикарпа, и да се у епидермису плода (E1) и ендокарпу (I1) дешавају антиклиналне деобе које омогућавају раст плода повећањем броја ћелија, док се у субепидермском слоју (E2) и слоју изнад (I2) дешавају неколико пута периклиналне деобе ћелија које доприносе повећању броја слојева ћелија у перикарпу. Кандидат на основу својих резултата закључује да оба типа деоба доприносе укупном расту величине перикарпа и плода. Биљке Ailsa Craig које су биле изложене PRD третману су формирале плодове сличне величине и масе као и биљке које су биле оптимално заливане. Са друге стране у DI третману је дошло до значајне редукције у величини, али не и сувој маси плодова. Ови резултати указују да се PRD методом, која индукује одговарајуће адаптивне реакције парадајза на сушу, могу остварити уштеде и до 30% од укупне количине воде за заливање, а да при томе не дође до смањења величине плодова и масе плодова, а што је од значаја за принос парадајза у условима суше. Редуковани дефицит наводњавања (DI) и степен суше коме су биљке Ailsa Craig биле изложене изазвао је смањење трајања фазе експоненцијалног раста плодова, што је за последицу имало мању масу перикарпа (ранији престанак процеса раста и мањи пречник ћелија) и мању свежу масу плода, али без утицаја на максималну брзину раста плода, суву масу плода и масу плаценте са семенима. У PRD третману је, у поређењу са DI, уочен сличан степен редукције величине ћелија у слојевима спољашњег перикарпа (E2a-g, E3, E4) али не и раста и величине унутрашњег перикарпа, што је вероватно допринело расту укупне масе перикарпа и одржању величине плодова.

Анализа динамике процеса растења је показала да је фаза експоненцијалног раста плодова Ailsa Craig трајала око 50% дуже, док је брзина раста плода била за 30% већа него код генотипа *flacca*. То је резултирало тиме да су плодови Ailsa Craig имали за 60% већу свежу масу, за 30% већи пречник и за 70% већу суву масу плода и масу перикарпа од *flacca*. Кандидат претпоставља да су ове особине директно зависне од концентрације АБА или од њеног индиректног утицаја преко интеракције АБА са другим сигналним молекулима. Кандидат на основу цитолошке анализе закључује да је редукција величине плода и дебљине перикарпа код *flacca* у односу на плодове биљака Ailsa Craig, резултат мањег броја ћелија перикарпа (за око 40%), мањег обима и пречника ћелија (за око 20%), као и површине ћелија у слојевима унутрашњег (за око 50%) и спољашњег перикарпа (за око 70%). На основу ове анализе може се закључити и да код Ailsa Craig постоји висок степен деоба ћелија у слојевима који потичу од слоја E2 (субепидермског слоја), док се у плодовима *flacca* у истим условима слојеви E2j и E2 и уопште не формирају из чега кандидат закључује да је деоба или и раст ћелија перикарпа код *flacca* значајно мањи у поређењу са Ailsa Craig.

На основу резултата кандидат указује да код *flacca* PRD и DI третмани не утичу на масу перикарпа, масу плаценте са семенима, промену суве масе плода и проценат суве масе плода као ни на однос масе перикарпа. Кандидат закључује да је PRD третман испољио позитивно дејство на растење плодова *flacca* кроз позитивни утицај на каснији раст ћелија перикарпа и појаву додатних деоба ћелија током касне фазе раста ћелија. Код *flacca* се редукција свих цитолошких параметара раста плода у DI

третману дешавала раније и интензивније у односу на PRD третман, па кандидат закључује да је то допринело развоју значајно мањих плодова у DI третману у поређењу са PRD и FI третманом. На основу овога се може закључити да деоба ћелија вероватно има пресудну улогу у детерминацији коначне величине плодова у различитим третманима наводњавања. На крају кандидат закључује да се обе најсавременије примењене анатомске методе (метода ензимске мацерације ткива и метода квантификације у хистолошким пресецима) могу користити за потребе анализе растења и других плодова а не само парадајза, и то за потребе оптимизације агротехничких мера или испитивања дејства различитих абиотичких и биотичких стресних фактора.

2.8. Литература

У поглављу Литература, кандидат је навео 339 литературних јединица које представљају селекцију најважнијих референци из ове области истраживања. Већина цитираних референци су радови објављени у међународним часописима. Аутор је цитирао једну своју референцу.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Кандидат мр Илинка Пећинар је по мишљењу чланова Комисије остварила све циљеве докторске дисертације у складу са одобреном пријавом. Ова дисертација је резултат оригиналног и самосталног научног рада који је дао значајан допринос разумевању ефеката стресних фактора на морфолошке и анатомске параметре развоја плода парадајза. У истраживањима су коришћене најсавременије анатомске методе и софтверски пакети који су омогућили праћење динамике деобе и растења ћелија у оквиру различитих ткива плода парадајза. То је допринело разумевању ових процеса, како на ћелијском нивоу, тако и на нивоу целих плодова. Ове методе су први пут коришћене за испитивање ефеката суше и дефицита наводњавања на развој плодова парадајза али је за очекивати да ће се оне користити за испитивања и код других култура, и допринети разумевању ефеката не само суше већ и других абиотичких или биотичких стресних фактора на развој плодова.

Допринос ове дисертације огледа се у детаљном сагледавању проблема суше на морфолошком и анатомском нивоу, односно на целовитом сагледавању њихове повезаности а што до сада код нас није у довољној мери обрађивано. То је од посебног значаја јер доприноси унапређењу сазнања о адаптивним реакцијама биљака на сушу и друге стресне факторе и од значаја је за разумевање теоријских основа и реакција биљака на PRD и DI као нове методе наводњавања биљака. Због тога сматрамо да је проблематика коју је мр Илинка Пећинар изабрала, експериментално обрадила и детаљно анализирао, веома значајна, а добијени резултати, њихова презентација и тумачење дају запажен допринос како фундаменталним тако и апликативним истраживањима утицаја суше на растење плодова парадајза. Део ових истраживања је обављен у оквиру ЕУ ФП 6 пројекта (CROPWAT) и ФП 7 пројекта (AREA) и два пројекта билатералне сарадње Србије са Француском и Немачком у истакнутим међународним истраживачким институцијама. Ове најсавременије методе су омогућиле кандидату да адекватно и целовито провери постављену хипотезу и тиме оствари задати циљ. Рад је написан концизно и јасно, резултати су коректно приказани,

објашњени и дискутовани. Тумачења резултата су научно заснована и правилно поређена са резултатима из литературе. Такође треба истаћи да је у тези, уз јасно приказане резултате кандидата и њихову детаљну дискусију, представљен и изузетно добар преглед литературе који по своме обиму, броју цитираних литературних података и квалитету тумачења савремених истраживања одговара монографском раду. Резултати који се односе на анатомска испитивања парадајза добили су и своју међународну верификацију у форми једног штампаног рада у међународним часопису (**Protoplasma**) и као поглавље у међународној монографији **“Microscopy: Science, Technology, Applications and Education”**.

На основу свега изнетог Комисија са посебним задовољством предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену докторске дисертације мр Илинке М. Пећинар под насловом **“Морфо-анатомска и цитолошка анализа плода парадајза током развоја у условима суше ”** и одобри кандидату јавну одбрану.

У Београду, 31. 10. 2014. год.

Чланови Комисије:

др Радмила Стикић, редовни професор у пензији
Пољопривредни факултет Универзитета у Београду
(Физиологија гајених биљака)

др Драгана Ранчић, доцент
Пољопривредни факултет Универзитета у Београду
(Пољопривредна ботаника)

др Софија Пекић Quaglie, редовни професор
Државни Универзитет у Новом Пазару
(Експериментална ботаника)

др Соња Дулетић Лаушевић, ванредни професор
Биолошки факултет Универзитета у Београду
(Морфологија, фитохемија и систематика биљака)

др Дубравка Савић, ванредни професор
Пољопривредни факултет Универзитета у Београду
(Повртарство)

Прилог: Рад мр Илинке М. Пећинар у часопису од међународног значаја:

Rančić, D., Pekić Quarrie, S., Radošević, R., Terzić, M., **Pećinar, I.**, Stikić, R., Jansen, S. (2010): The application of various anatomical techniques for studying the hydraulic network in tomato fruit pedicels, *Protoplasma* 246 (1-4): 25-31.