

UNIVERZITET U BEOGRADU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Sladana J. Janković

Morfogeneza i anatomsko fiziološke  
karakteristike reproduktivnih organa oraha  
(*Juglans regia* L.)

Doktorska disertacija

Beograd, 2016

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE

Sladana J. Janković

Morphogenesis and anatomico-physiological  
characteristics of reproductive organs of  
walnut (*Juglans regia* L.)

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016

MENTOR:

---

dr Dragan Milatović, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

ČLANOVI KOMISIJE:

---

dr Dragan Nikolić, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

---

dr Nikola Mičić, redovni profesor  
Univerzitet u Banjoj Luci, Poljoprivredni fakultet

---

dr Milovan Veličković, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

---

dr Milica Fotirić Akšić, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

DATUM ODBRANE: \_\_\_\_\_

*Neizmerno sam zahvalna svom mentoru, prof. dr Draganu Milatoviću na nesebičnoj pomoći, strpljenju, razumevanju i podršci tokom čitavih doktorskih studija. Njegove precizne, konkretne i jasne smernice pri definisanju teme i planiranju oglada, kao i tokom sprovođenja istraživanja i pisanja disertacije imali su presudnu ulogu u realizaciji i konačnom uobličavanju ovog rada.*

*Zahvaljujem se prof. dr Draganu Nikoliću na podršci i savetima pri osmišljavanju teme, planiranju istraživanja i pisanju doktorske disertacije.*

*Veliku zahvalnost dugujem prof dr Nikoli Mičiću, koji je usmerio moje interesovanje ka polju reproduktivne biologije, na pruženoj stručnoj i tehničkoj pomoći.*

*Zahvaljujem se prof. dr Milovanu Veličkoviću i prof. dr Milici Fotirić Akšić na korisnim savetima i sugestijama tokom pisanja doktorske disertacije.*

*Zahvaljujem se kolegama sa Katedre za botaniku Poljoprivrednog fakulteta u Zemunu na pomoći u realizaciji eksperimentalnog dela istraživanja.*

*Veliko hvala dr Kazimiru Matoviću sa Veterinarskog specijalističkog instituta u Kraljevu na pruženoj tehničkoj pomoći.*

*Najiskrenije se zahvaljujem svojim prijateljima Milanu i Veri Kovinić u čijem zasadu su vršena istraživanja, kao i Miri Planić čiji je spontani sejanac oraha MI takođe bio zastupljen u ogledu.*

*Neizmerno hvala mojim roditeljima na svemu što su nam pružili, što su nam ukazali na značaj obrazovanja i omogućili školovanje, kao i braći i sestri na ljubavi i podršci.*

*Beskrajnu zahvalnost dugujem suprugu Draganu, ćerki Jeleni i sinu Nikoli, koji su moj najveći oslonac u životu i radu i kojima posvećujem ovu disertaciju. Njihova ljubav, bezrezervna podrška, strpljenje, razumevanje i vera u mene bili su najveći motiv da istrajem i dovedem ovaj projekat do kraja.*

# **Morfogeneza i anatomske fiziološke karakteristike reproduktivnih organa oraha (*Juglans regia* L.)**

## **Rezime**

U periodu od 2010. do 2013. godine u ekološkim uslovima Kraljeva proučavane su anatomske, morfološke i fiziološke osobine reproduktivnih organa kod pet sorti oraha (Šampion, Šejново, Gajzenhajmski 139, Gajzenhajmski 251 i Elit) i jednog spontanog sejanca.

U radu je dat detaljan opis građe muških i ženskih cvetova na anatomskom i morfološkom nivou. Morfometrijska analiza resa, antera, polenovih zrna, ženskih cvetova, semenih zametaka i embrionovih kesica pokazala je da na neke morfometrijske parametre ne utiču značajno faktori spoljašnje sredine i da se oni mogu uspešno koristiti za determinaciju sorti.

Procesi diferencijacije muških i ženskih cvetova, uključujući i procese formiranja muškog i ženskog gametofita, odvijali su se sukcesivno i istim redosledom kod svih ispitivanih genotipova i u svim godinama, a razlike po godinama i među genotipovima odnosile su se prvenstveno na vreme početka i dužinu trajanja pojedinih faza razvitka. U radu su definisane, detaljno opisane i fotodokumentovane karakteristične faze razvojnih procesa, a njihova dinamika prikazana je grafički za svaki genotip. Tip dihogamije ispoljio je značajan uticaj na dinamiku razvoja generativnih pupoljaka i cvetova. Između mikrofenofaza u razvitku muških i ženskih cvetova i stadijuma u formiranju spora i gameta u njima utvrđen je visok stepen podudarnosti, što omogućava da se na osnovu morfoloških promena na cvetovima prate histološke promene u sporogenim tkivima i gametofitima cvetova.

Na morfološke osobine rodnog drveta (debljinu i dužinu rodnih letorasta i plodonosnih prirasta, broj nodusa i strukturu pupoljaka na grančicama i po nodusima) značajan uticaj ispoljili su genotip i faktori spoljašnje sredine. Na indukciju muških i ženskih cvasti značajno su uticali genotip, godina, razvijenost grančice i položaj pupoljka na grančici. Prisustvo ženskih cvetova ili mladih plodova na plodonosnim

mladarima u nekim slučajevima imalo je negativan uticaj na indukciju novih generativnih pupoljaka na plodonosnim prirastima.

Na klijavost polena, ispitivanu u *in vitro* uslovima, značajan uticaj imali su genotip, sastav podloge, temperatura i uslovi skladištenja. Značajna zavisnost klijavosti polena od interakcija između komponenata hranljive podloge (agara, saharoze, borne kiseline i kalcijum hlorida), u kombinaciji sa genotipom, ukazuje na potrebu da je pri ispitivanju klijavosti polena neke sorte potrebno prethodno odrediti optimalan sastav hranljive podloge. Sastav hranljive podloge uticao je značajno i na dužinu polenovih cevčica.

**Ključne reči:** orah, genotip, rodne grančice, cvetovi, morfogeneza, polenovo zmo, embrionova kesica, klijavost polena, temperatura, skladištenje.

**Naučna oblast:** Biotehničke nauke

**Uža naučna oblast:** Voćarstvo

**UDK:** 634.51, 631.522

# **Morphogenesis and anatomico-physiological characteristics of reproductive organs of walnut (*Juglans regia* L.)**

## **Summary**

Over the period of 2010-2013, under the environmental conditions of Kraljevo, the anatomical, morphological and physiological properties of reproductive organs were studied in five walnut cultivars ('Šampion', 'Sheinovo', 'Geisenheim 139', 'Geisenheim 251' and 'Elit') and one chance seedling.

A detailed description of both the anatomical and the morphological structure of staminate and pistillate flowers is provided. The morphometric analysis of catkins, anthers, pollen grains, pistillate flowers, ovules and embryo sacs showed that some morphometric parameters are not significantly affected by environmental factors and that they can be successfully used for cultivar identification.

The differentiation of staminate and pistillate flowers, including the formation of male and female gametophytes, occurred in successive stages following the same sequence of events in all genotypes studied and in all years, with differences across years and genotypes primarily regarding the onset time and length of particular developmental stages. Characteristic stages in the developmental processes are defined, detailed and photodocumented, and their dynamics is graphically presented for each genotype. The type of dichogamy exhibited a significant effect on the developmental dynamics of generative buds and flowers. A high degree of correspondence was determined between the microphenological phases of staminate and pistillate flowers and the stages of spore and gamete formation, which enables the observation of histological changes in sporogenous tissues and gametophytes based on changes in flower morphology.

The morphological properties of the bearing wood (thickness and length of bearing shoots and bourse shoots, number of nodes, and structure of buds on the shoots and at nodes) were significantly affected by genotype and environmental factors. The induction of staminate and pistillate inflorescences was significantly affected by genotype, year, degree of shoot development and bud position on the shoot.

The presence of pistillate flowers or young fruits on bourse shoots in some cases had an adverse effect on the induction of new generative buds on bourse shoots.

Pollen germination, examined under *in vitro* conditions, was significantly affected by genotype, culture medium composition, temperature and storage conditions. Culture medium composition had a significant effect on the rate of pollen tube growth. The significant dependence of pollen germination upon interactions among the culture medium components (agar, sucrose, boric acid and calcium chloride), in combination with genotype, indicates the need to determine the optimum composition of a culture medium prior to analysis of pollen germination of a particular cultivar.

**Key words:** walnut, genotype, bearing shoots, flowers, morphogenesis, pollen grain, embryo sac, pollen germination, temperature, storage.

**Scientific field:** Biotechnical sciences

**Major scientific field:** Pomology

**UDK:** 634.51, 631.522



# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. CILJ ISTRAŽIVANJA</b> .....	5
<b>3. PREGLED LITERATURE</b> .....	6
3.1. Morfološke karakteristike jednogodišnjih grančica.....	6
3.2. Morfološke karakteristike ženskih reproduktivnih organa.....	10
3.3. Morfološke karakteristike muških reproduktivnih organa.....	18
3.4. Kljavost polena.....	25
<b>4. RADNA HIPOTEZA</b> .....	32
<b>5. OBJEKAT MATERIJAL I METODE RADA</b> .....	33
5.1. Objekat.....	33
5.2. Materijal.....	34
5.3. Metode istraživanja.....	35
5.3.1. Morfološke karakteristike jednogodišnjih grančica.....	35
5.3.2. Morfološke karakteristike ženskih reproduktivnih organa.....	38
5.3.3. Morfološke karakteristike muških reproduktivnih organa.....	39
5.3.4. Kljavost polena.....	40
5.4. Statistička analiza podataka.....	43
<b>6. AGROEKOLOŠKI USLOVI</b> .....	45
6.1. Klimatski uslovi.....	45
6.2. Zemljišni uslovi.....	47
<b>7. REZULTATI ISTRAŽIVANJA</b> .....	48
7.1. Morfološke karakteristike rodnih grančica.....	48
7.1.1. Debljina grančica.....	48
7.1.2. Broj nodusa na grančicama.....	51
7.1.3. Broj i raspored mešovutih pupoljaka na grančicama.....	52
7.1.4. Broj i raspored resa na grančicama.....	60
7.1.5. Broj i raspored vegetativnih pupoljaka na grančicama.....	66
7.1.6. Zastupljenost vegetativnih i različitih kategorija generativnih prirasta u strukturi jednogodišnjih grančica.....	71
7.2. Morfološke karakteristike ženskih reproduktivnih organa.....	76
7.2.1. Građa mešovutih pupoljaka.....	76
7.2.2. Građa ženskih cvetova.....	80
7.2.3. Morfometrija ženskih cvetova i semenih zametaka.....	86
7.2.4. Morfogeneza ženskih cvetova.....	88
7.2.5. Makrosporigeneza i makrogametogeneza.....	93
7.3. Morfološke karakteristike muških reproduktivnih organa.....	101
7.3.1. Građa resa.....	101
7.3.2. Građa muških cvetova.....	103
7.3.3. Morfometrija resa i antera.....	104
7.3.4. Morfogeneza resa i muških cvetova.....	107
7.3.5. Formiranje mikrogametofita.....	113
7.3.6. Građa i morfometrija polenovih zrna.....	117
7.4. Kljavost polena.....	119
7.4.1. Uticaj sastava hranljive podloge na kljavost polena.....	119
7.4.2. Uticaj temperature na kljavost polena.....	130
7.4.3. Uticaj vremena i uslova skladištenja na kljavost polena.....	133

<b>8. DISKUSIJA</b> .....	138
8.1. Morfološke karakteristike jednogodišnjih grančica.....	138
8.1.1. Debljina grančica.....	138
8.1.2. Broj nodusa na grančicama.....	140
8.1.3. Broj i raspored mešovitih pupoljaka na grančicama.....	143
8.1.4. Broj i raspored resa na grančicama.....	146
8.1.5. Broj i raspored vegetativnih pupoljaka na grančicama.....	149
8.1.6. Zastupljenost vegetativnih i različitih kategorija generativnih prirasta u strukturi jednogodišnjeg drveta .....	150
8.2. Morfološke karakteristike ženskih reproduktivnih organa.....	154
8.2.1. Građa mešovitih pupoljaka.....	154
8.2.2. Građa ženskih cvetova.....	157
8.2.3. Morfometrija ženskih cvetova i semenih zametaka.....	163
8.2.4. Morfogeneza ženskih cvetova.....	165
8.2.5. Makrosporogeneza i makrogametogeneza .....	170
8.3. Morfološke karakteristike muških reproduktivnih organa.....	176
8.3.1. Građa resa.....	176
8.3.2. Građa muških cvetova.....	178
8.3.3. Morfometrija resa i antera.....	179
8.3.4. Morfogeneza resa i muških cvetova.....	180
8.3.5. Formiranje mikrogametofita.....	183
8.3.6. Građa i morfometrija polenovih zrna.....	187
8.4. Klijavost polena.....	189
8.4.1. Uticaj sastava hranjive podloge na klijavost polena.....	189
8.4.2. Uticaj temperature na klijavost polena.....	196
8.4.3. Uticaj vremena i uslova skladištenja na klijavost polena.....	197
<b>9. ZAKLJUČAK</b> .....	201
<b>10. LITERATURA</b> .....	209

## 1. UVOD

Orah je najznačajnija jezgrasta voćka u Srbiji i jedna od najvažnijih vrsta jezgrastih voćaka u svetu. Orah se gaji prvenstveno radi plodova (jezgre), a u manjoj meri i radi drveta. Za različitu namenu mogu da se koriste i drugi delovi biljke: kora, lišće, klapina i ljuska ploda (Janković i Janković, 2014; Milatović, 2014). Plodovi svih vrsta oraha jestivi su, ali samo plodovi nekoliko vrsta imaju veći komercijalni značaj. Obični orah (*Juglans regia* L.) je rodonačelnik najboljih sorti i selekcija oraha koje se gaje u svetu.

U sistematici biljaka orah zauzima sledeće mesto:

tip: *Angiospermae* (skrivenosemenice)

klasa: *Dicotyledonae* (dikotile)

red: *Juglandales*

familija: *Juglandaceae*

rod: *Juglans*

sekcija: *Dioscarion* (*Juglans*)

Orahova jezgra ima veliku energetska, hranljivu, dijetoprofilaktičku i dijetoterapeutsku vrednost. Osušena jezgra sadrži oko 60–70% ulja, 15–20% proteina, 12–14% ugljenih hidrata, vitamine (A, E, C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, folnu kiselinu, pantotensku kiselinu i niacin), 2–3% mineralnih materija (K, Mg, P, Ca, Na, Fe, Zn, Cu, J, Mn) i dr. Energetska vrednost jezgre oraha iznosi oko 600 kcal/100 g (Janković i Janković, 2014). U ukupnom sadržaju masnih materija u jezgri svega oko 15% učestvuju zasićene masne kiseline, a ostatak su nezasićene, koje predstavljaju značajan faktor u smanjenju rizika od oboljenja kardiovaskularnog sistema ljudi (Tsamouris *et al.* 2002). Proteini u jezgri oraha su veoma kvalitetni, jer sadrže arginin i lizin, esencijalne aminokiseline, koje ljudski organizam ne može samostalno da sintetiše (Taha i Al-wadaan, 2011). U jezgri oraha nalazi se i sumporna aminokiselina taurin, koja je zastupljena u veoma malom broju namirnica biljnog porekla, čiji deficit kod ljudi može da izazove pigmentnu degeneraciju mrežnjače (Milind i Deepa, 2011). Elaginska kiselina, koju sadrže plodovi i listovi oraha, ispoljava antihemoragično dejstvo (Liu *et al.*, 2010), inhibira rast i razmnožavanje ćelija raka (Feldman *et al.*, 1999; Losso *et al.* 2004) i inhibira adsorpciju HIV na ćelije i efekat HIV enzima na DNK (Ruibal *et al.*, 2003).

Mladi plodovi oraha i klapina bogat su izvor vitamina C, joda i juglona. Juglon ( $C_{10}H_6O_3$ ) je aromatično jedinjenje, koje se kod oraha nalazi u svim delovima biljke. Juglon se koristi kao prirodna boja za kosu i vunu (Harborne, 1988), a u tradicionalnoj medicini mnogih naroda predstavlja glavni sastojak raznih lekovitih preparata protiv valjkastih crva, gljivičnih, bakterijskih i virusnih infekcija (Erdemoglu *et al.*, 2003). U savremenim medicinskim istraživanjima utvrđeno je da juglon inhibira rast patogenih oralnih bakterija, izazivača karijesa (*Streptococcus mutans* i *Streptococcus sanguis*) i oboljenja desni (*Porphyromonas gingivalis* i *Prevotella intermedia*) (Cai *et al.*, 2000), da deluje nematocidno (Dama, 2002) i da ispoljava značajne efekte u borbi protiv malignih ćelija (Okada *et al.*, 1967; Segura-Aguilar *et al.*, 1992; Chao *et al.*, 2001).

Jezgra oraha može da se jede sveža, a koristi se dosta i za izradu raznih kulinarskih poslastica i kao cenjena sirovina u konditorskoj industriji (Janković i Janković, 2014). Hladnim presovanjem jezgre dobija se svetlo žuto ulje, prijatnog ukusa i arome, koje se koristi u kulinarstvu, farmaceutskoj industriji, kozmetici i kao vredna sirovina u industriji boja i za toniranje drvenog nameštaja (Taha i Al-wadaan, 2011). Mladi plodovi oraha koriste se za pravljenje likera i lekovitih napitaka (Milatović, 2014).

Drvo oraha je veoma tvrdo, zbijeno i išarano i predstavlja važnu sirovinu u industriji furnira, za izradu skupocenog nameštaja, muzičkih instrumenata, ukrasnih predmeta i kundaka. Listovi oraha se koriste za spravljanje čajeva i lekovitih napitaka i kao repelent za insekte. Od listova, kore i klapine dobija se braon boja za bojenje vune. Orahova ljuska se koristi za pravljenje aktivnog uglja, kao sredstvo za smanjenje klizanja za gume, kao blago abrazivno sredstvo pri uklanjanju stare boje u pripremi mekih površina za bojenje, poliranje i dr.

Zbog svoje dugovečnosti i estetskih vrednosti debla i krošnje, orah predstavlja cenjenu parkovsku biljku. Može da se koristi za podizanje drvoreda pored puteva i vetrozaštitnih pojaseva. Gajenje oraha ne zahteva mnogo radne snage, a zbog skromnih potreba u zaštiti, pogodan je za koncept organske proizvodnje voća. Plodovi oraha se beru u septembru i oktobru, lako se transportuju i čuvaju i mogu da se koriste tokom cele godine.

U svetu je u 2012. godini proizvedeno 3.418.559 t plodova oraha u ljusci, na površini od 995.040 ha (FAOSTAT, 2015). U Srbiji se proizvede godišnje oko 20.000-

25.000 t plodova oraha. U zavisnosti od godine, prinosi po stablu kreću se 5-15 kg, što ukazuje da je proizvodnja oraha u Srbiji ekstenzivna. Proizvodnja se još uvek bazira na selekcionisanim stablima generativnog porekla, koja rastu i rađaju spontano u prirodi, a na relativno maloj površini proizvodnja se obavlja u planski podignutim plantažnim zasadima (Janković i Janković, 2014).

Kao rezultat selekcija iz lokalnih populacija, u Srbiji je stvoreno pet sorti oraha (Šampion, Srem, Tisa, Bačka i Mire) i nekoliko perspektivnih selekcija. Pored kasnog listanja, ranijeg završetka vegetacije, otpornosti na bolesti i štetne insekte, krupne jezgre i visokog kvaliteta plodova i jezgre, koji su u ranijim oplemenjivačkim programima predstavljali najvažnije ciljeve, moderni programi oplemenjivanja podrazumevaju da sorte znatno ranije ulaze u period pune rodnosti (u petoj ili šestoj godini posle sađenja) i da zahvaljujući lateralnom tipu rađanja i većem broju ženskih cvetova u mešovitim pupoljcima daju redovne i visoke prinose. Sadašnji sortiment oraha u Srbiji je zastareo, a savremena tehnologija gajenja sporo nalazi svoje mesto u novim zasadima. U cilju intenziviranja proizvodnje, potrebno je stvoriti ili introdukovati nove kvalitetnije i rodnije sorte i primeniti savremena tehnološka dostignuća u gajenju oraha.

Moderna komercijalna proizvodnja voća podrazumeva detaljno poznavanje ekofizioloških i proizvodnih karakteristika sorti i definisanje sortno specifične agro i pomotehnike. U tom pogledu, poznavanje reproduktivne fiziologije vrsta i sorti voćaka predstavlja jednu od najvažnijih komponenti biološke kontrole njihovog rasta i rađanja. Proučavanje reproduktivne biologije oraha je otežano usled specifičnih morfoloških i fizioloških osobina njegovih reproduktivnih organa, po čemu se orah značajno razlikuje od većine drugih vrsta voćaka. Pored toga, orah se karakteriše relativno dugim juvenilnim periodom i velikom genetičkom raznolikošću.

Kod oraha se muški (prašnički) i ženski (tučkasti) cvetovi nalaze na istoj jedinki, po čemu on pripada grupi jednodomnih ili monoecijskih biljaka. Muški i ženski cvetovi oraha su prostorno razdvojeni i ova pojava se naziva herkogamija (Mišić, 2002). Kod većine sorti oraha ženski i muški cvetovi se ne otvaraju istovremeno. Sistem oprašivanja gde se u okviru iste vrste javljaju protandrične, kao i protoginične jedinke predstavlja fenotipski dimorfizam poznat kao heterodihogamija. Ako muški cvetovi oslobađaju polen pre nego što ženski cvetovi postanu receptivni, radi se o protandriji, a ako se oslobađanje polena vrši posle perioda receptivnosti ženskih cvetova, ta pojava se naziva

protoginija (Gleeson, 1982). Pošto je većina sorti i selekcija oraha dihogamna, potrebno je da u zasadu bude više različitih genotipova koji se međusobno oprašuju (Mišić, 2002). Iako je opšte zastupljen stav da je vrsta *J. regia* L. potpuno autofertilna, činjenica da je za dobar prinos oraha neophodno da zametne plodove najmanje 50% ženskih cvetova (Westwood, 1993) nameće potrebu prisustva kvalitetnih oprašivača u zasadima oraha.

Oprašivanje oraha je anemofilno (vrši ga vetar). Orah stvara velike količine polena, ali polen oraha na sobnoj temperaturi brzo gubi funkcionalnu sposobnost (Polito, 1998). Da bi se za potrebe hibridizacije oraha obezbedila dovoljna količina kvalitetnog polena različitih genotipova, neophodno je ovladati tehnologijom skladištenja polena koja obezbeđuje održavanje njegove funkcionalne sposobnosti najmanje jednu godinu.

## 2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Kao monoecijska vrsta, kod koje su muški i ženski reproduktivni organi razdvojeni u različitim cvetovima na istom stablu, orah se odlikuje složenim polnim procesom i po tome se dosta razlikuje od većine ostalih vrsta voćaka. Obzirom da biologija reproduktivnih organa oraha u našim uslovima nije dovoljno izučavana, mnoga pitanja u vezi seksualne reprodukcije ove vrste još uvek su nerazjašnjena.

Predmet istraživanja u okviru ove disertacije bio je proučavanje morfoloških, fizioloških i ontogenetskih osobina različitih kategorija rodni grančica, generativnih pupoljaka i ženskih i muških cvetova šest genotipova oraha u klimatskim uslovima centralne Srbije. Prilikom proučavanja procesa formiranja muškog i ženskog gametofita oraha, jedan od osnovnih ciljeva bio je pronalaženje veza histogenetskih promena u sporogenim tkivima sa spoljašnjim manifestacijama procesa morfogeneze muških i ženskih cvetova. Na taj način, moguće je definisati modele za jednostavnije praćenje dinamike procesa diferencijacije generativnih tkiva na osnovu mikro i makrofenoloških promena generativnih organa. Cilj proučavanja uticaja temperature i različitih koncentracija agara, saharoze, borne kiseline i kalcijum hlorida na klijavost polena različitih genotipova oraha bio je pronalaženje optimalnog sastava podloge za naklijavanje polena oraha u *in vitro* uslovima. Proučavanje faktora koji utiču na dinamiku smanjenja klijavosti polena omogućava definisanje optimalnog postupka i uslova za njegovo čuvanje.

Detaljno upoznavanje procesa formiranja muških i ženskih reproduktivnih organa oraha i njihovih morfoloških i ekofizioloških osobina kroz prizmu genotipskih specifičnosti ima za cilj da upotpuni znanja iz oblasti reproduktivne biologije, da posluži kao osnova za primenu novih tehnika i metoda u oplemenjivanju i biološkoj kontroli rasta i razvitka ove vrste voćaka, kao i da bude putokaz u izboru glavnih sorti i sorti oprašivača u savremenom plantažnom gajenju oraha.

### 3. PREGLED LITERATURE

#### 3.1. Morfološke karakteristike jednogodišnjih grančica

Poznavanje organogeneze rodnog drveta voćaka predstavlja osnovu za definisanje i pravilnu primenu agro i pomotehničkih mera u voćarstvu. Po morfološkim karakteristikama rodnog drveta orah se dosta razlikuje od ostalih vrsta voćaka (Mičić i sar., 1987). Na letorastima oraha formiraju se tri vrste pupoljaka: 1) vegetativni pupoljci, 2) nerazvijene rese i 3) mešoviti pupoljci (Germain *et al.*, 1973).

Na vrhu letorasta oraha nalazi se terminalni pupoljak, a bočno, na nodusima, pupoljci mogu biti raspoređeni pojedinačno ili serijalno (jedan iznad drugog). U slučaju serijalnog rasporeda pupoljaka, gornji pupoljak na nodusu je razvijeniji i predstavlja primarni pupoljak (Polito, 1998). On se razvija iz meristemskog tkiva zaostalog u pazuhu lista, koje biva odvojeno od apikalnog meristema diferencijacijom okolnih ćelija primarne kore. Kada se na apikalnom meristemu primarnog pupoljka formiraju 1-2 lisne primordije, od ostatka zaostalog meristema počinje da se diferencira donji (sekundarni) pupoljak. Oba serijalna pupoljka na nodusu prolaze kroz iste faze diferencijacije, ali se razvitak sekundarnog pupoljka vrši sporije (Garrison, 1955).

Mladi meristemi u pupoljcima oraha mogu da se diferenciraju na tri načina: da budu vegetativni pupoljci, da se diferenciraju u primordije resa ili da postanu mešoviti pupoljci sa primordijama ženskih cvetova na vrhovima (Sladký, 1972). Obrazac po kojem će se vršiti diferencijacija mladih meristema u pupoljcima regulisan je odnosom biljnih hormona u njima, koji je pod veoma snažnim uticajem lista u čijem pazuhu se pupoljak nalazi (Atsmon i Galun, 1962). Heslop-Harrison (1963) smatra da nizak nivo auksina u pupoljcima stimuliše formiranje muških cvetova. Langrová i Sladký (1971) navode da se rese oraha diferenciraju u vreme kada je koncentracija giberelina u pupoljcima visoka, a koncentracije auksina i abscisne kiseline niske, dok diferencijacija ženskih cvetova u terminalnim pupoljcima započinje pri niskom nivou giberelina i visokom nivou auksina i abscisinske kiseline.

Iz vegetativnih pupoljaka oraha razvijaju se mladari sa listovima. Završetkom vegetacionog perioda mladari odrvenjavaju, odbacuju listove i prelaze u kategoriju letorasta (Lučić i sar., 1996). Nerazvijene rese oraha predstavljaju začetke muških



cvasti, koje se sastoje od osovine, na kojoj se u spiralnom rasporedu nalazi više desetina začetaka muških cvetova. U periodu mirovanja rese imaju izgled malih šiškarki tamnosmeđe boje (Mičić i sar., 1987). Mladari koji se razvijaju iz mešovitih pupoljaka predstavljaju fruktifikacione priraste (plodnosne mladare), koji imaju jasno izdiferencirane internodije i podsećaju izgledom na obične mladare, osim što na svom vrhu nose cvetove. Plodnosni mladari do kraja vegetacije normalno dozrevaju i prelaze u kategoriju letorasta sa prekinutim vršnim rastom. Na njihovom vrhu, umesto terminalnog pupoljka, nalaze se ožiljci od ženskih cvetova ili plodova (Mičić, 1992).

U vegetativnim i mešovitim pupoljcima drvenastih biljaka diferenciraju se mladari na kojima je formiran određeni broj nodusa sa primordijama listova. Kod mladara sa ograničenim rastom broj diferenciranih nodusa u pupoljcima je konačan, što znači da u toku razvoja mladara ne dolazi do stvaranja novih nodusa. Kod mladara sa neograničenim rastom, pored nodusa koji su već bili diferencirani u pupoljcima, aktivnošću apikalnog meristema mladara formiraju se novi nodusi (Pallardy, 2008).

Letorasti oraha mogu biti monociklični, biciklični i triciklični. Monociklični letorasti se formiraju u toku prvog talasa rasta, u proleće, i po pravilu se svi organi letorasta razvijaju od primordija koje su već zametnute u zimskom pupoljku. Monociklični letorasti obično imaju mešovite pupoljke u terminalnoj poziciji, dok su biciklični i triciklični letorasti najčešće vegetativnog karaktera (Barthélémy *et al.*, 1995). Nakon što stabla oraha dostignu svoj maksimalan razvoj, gotovo svi letorasti na periferiji krošnje predstavljaju monociklične rodne grančice (Sabatier i Barthélémy, 2001).

Solar i Štampar (2003) su kod oraha definisali četiri načina grananja i rađanja: 1) terminalni tip rađanja, 2) intermedijalni tip rađanja sa mezotoničnim grananjem, 3) intermedijalni tip rađanja sa akrotoničnim grananjem i 4) lateralni tip rađanja. Autori su utvrdili prisustvo korelacije između načina grananja i rađanja i pojedinih morfoloških karakteristika letorasta (debljine letorasta, broja nodusa na letorastu, broja vegetativnih i mešovitih pupoljaka na letorastu i broja ženskih cvasti na letorastu). Lauri *et al.* (2001) su pokazali da dužina plodnosnih mladara može značajno da utiče na masu plodova koji se na njima formiraju. Kelc *et al.* (2007) su kod sorte oraha Franquette, otkrili značajnu povezanost mase plodova sa dužinom letorasta, debljinom letorasta, brojem plodova na plodnosnim mladarima, debljinom plodnosnih mladara i brojem listova na

plodonosnim mladarima. Kelc *et al.* (2010) su između sorti koje su pripadale različitim tipovima grananja i rađanja utvrdili značajne razlike u dužini i debljini letorasta, kao i u broju vegetativnih i mešovitih pupoljaka na letorastu. Pored genotipa, i ekološki uslovi su ispoljili značajno delovanje na veličinu rodnog i vegetativnog potencijala ispitivanih stabala oraha.

Solar i Štampar (2003) su zaključili da broj nodusa po letorastu zavisi od genotipa. Autori su kod genotipova sa terminalnim tipom rađanja utvrdili manji broj nodusa po letorastu nego kod akrotoničnih genotipova sa prelaznim tipom rađanja. Sabatier i Barthélémy (2001) navode da broj nodusa na monocikličnim prirastima oraha zavisi, ne samo od uslova koji vladaju u godini njihovog razvoja, već i od delovanja ekoloških faktora u godini u kojoj je tekla diferencijacija pupoljaka u kojima su ovi prirasti začeti. Solar *et al.* (2005) su proučavali morfološke karakteristike jednogodišnjih grančica kod sorte Elit i utvrdili prisustvo interakcije između faktora spoljašnje sredine i tipa grančice, navodeći da je udeo grančica sa manje od 11 nodusa kod vegetativnih i plodonosnih prirasta značajno varirao u zavisnosti od godine.

Kod mnogih voćaka dokazano je da prelaz apikalnog meristema iz vegetativne faze u generativnu fazu razvitka nastupa tek pošto je na osovini pupoljka diferenciran dovoljan broj nodusa (Dennis, 1986).

Germain (1990, 1992) je kod oraha definisao tri tipa grananja i rađanja: terminalni, prelazni i lateralni. Kod terminalnog tipa grananja i rađanja mešoviti pupoljci se nalaze po pravilu samo na terminalnom, a ređe i na subterminalnom položaju na letorastima koji se formiraju pretežno na trogodišnjim granama. Kod genotipova sa prelaznim tipom grananja i rađanja mešoviti pupoljci su smešteni na terminalnom i subterminalnom položaju na letorastima koji se formiraju pretežno na dvogodišnjim granama (Germain, 1990). Kod genotipova koji se odlikuju lateralnim tipom grananja i rađanja mešoviti pupoljci su raspoređeni čitavom dužinom letorasta (Germain, 1997). Dzhuvinov i Gandev (2014) su sorte koje imaju manje od 10% lateralnih mešovitih pupoljaka svrstali u terminalni tip rađanja, sorte sa 10-40% mešovitih lateralnih pupoljaka – u prelazni tip rađanja, dok su prema ovim autorima sorte sa lateralnim tipom rađanja one koje imaju više od 40% lateralnih mešovitih pupoljaka.

Mert (2010) konstatuje da se rese kod oraha razvijaju iz lateralnih pupoljaka. Langrová i Sladký (1971) navode da se na prva 2-3 bazalna nodusa na mladima oraha po pravilu diferenciraju rese, na sledeća 3-4 nodusa nalaze se vegetativni pupoljci, a na vrhu mladara je smešten mešoviti pupoljak. Ryugo *et al.* (1985) su na stablima sorte oraha Serr kod kojih je bila smanjena vegetativna snaga rasta utvrdili tendenciju formiranja većeg broja resa nego na stablima koja su se odlikovala većom bujnošću. Prema Ryugo *et al.* (1985), zametanje novih resa kod protandričnih genotipova oraha bilo je obilnije nego kod protoginičnih genotipova.

Solar i Štampar (2003) su dokazali da broj vegetativnih pupoljaka na letorastima oraha zavisi od tipa rađanja i grananja. Najveći broj vegetativnih pupoljaka imali su letorasti sejanaca koji su se odlikovali terminalnim tipom rađanja, a najmanji genotipovi sa lateralnim tipom rađanja. Solar *et al.* (2004) su utvrdili prisustvo srednje jake korelacije između broja vegetativnih pupoljaka na letorastima i dužine letorasta. Prema Kelc *et al.* (2010), između broja vegetativnih pupoljaka na letorastima i srednjih dnevnih temperatura u periodu mart-april postojala je statistički značajna negativna korelacija.

Prema Lučiću i sar. (1996), obrastajući prirasti vegetativnog karaktera posle jedne ili više godina na svojim jednogodišnjim delovima formiraju generativne pupoljke i prelaze u kategoriju rodnog drveta, zbog čega se ovi prirasti nazivaju rodnim drvetom u evoluciji. Obrastajući prirasti koji na sebi nose bar jedan generativni pupoljak predstavljaju rodne grančice. Rodne grančice se po građi i kvalitetu razlikuju kod različitih vrsta voćaka (Lučić i sar., 1996).

Bulatović (1985) navodi da se u kruni oraha nalaze grančice koje nose muške cvetove i grančice koje se završavaju ženskim cvetovima. Mičić i sar. (1987) su na osnovu rasporeda pupoljaka na jednogodišnjim prirastima oraha definisali četiri tipa grančica: 1) vegetativne grančice (bez generativnih pupoljaka), 2) muške grančice (sadrže samo rese ili rese i vegetativne pupoljke), 3) ženske rodne grančice (na sebi imaju samo ženske pupoljke ili ženske i vegetativne pupoljke) i 4) kombinovane rodne grančice (sadrže ženske pupoljke i rese u kombinaciji sa vegetativnim pupoljcima ili bez njih).

Vegetativni prirasti oraha imaju monopodijalan rast i izgrađeni su od vegetativnih produžetaka apikalnog meristema (Bell, 1991). Prelaskom apikalnog meristema iz

vegetativne u generativnu fazu razvitka i diferenciranjem ženske cvasti na vrhu pupoljka, plodonosni mladari nastavlja rast simpodijalno, najčešće iz 1-3 lateralne vegetativne kupe koje se nalaze neposredno ispod ženske cvasti (Sabatier i Barthélémy, 2001; Bell, 1991). Plodonosni mladari oraha imaju sve karakteristike kao i obični vegetativni prirasti, s tom razlikom što na svom vrhu nose cvetove ili cvasti. Rast ovih prirasta nastavlja se u narednoj vegetaciji iz bočnih tačaka rasta, što ima za posledicu formiranje pršljenastih rodni grančica, kao kategorije starog rodnog drveta (Mičić, 1992).

Prema Lučiću i sar. (1996), u zavisnosti od starosti stabla i njegove reproduktivne sposobnosti, generativni prirasti mogu činiti veći ili manji deo obrastajućih prirasta krošnje. Veličković i sar. (1997b) utvrdili su da su na kvantitativnu zastupljenost najvažnijih tipova rodni grančica kod šljive značajan uticaj imali sorta i starost nosača rodnog drveta, odnosno stadijska starost grančica. Apostolova (2008) je utvrdila da su na strukturu rodnog drveta oraha značajan uticaj imali sorta i godina.

### **3.2. Morfološke karakteristike ženskih reproduktivnih organa**

Poznavanje anatomske-morfoloških karakteristika zimskih pupoljaka, uslova i mesta njihovog formiranja, kao i stepena njihove diferenciranosti značajno je za proizvodnu praksu. Pravilan odnos između rasta i rodnosti voćaka određen je pravilnim odnosom između pojedinih kategorija zimskih pupoljaka, u kojima su izdiferencirani svi organi koji će se iz njih razviti (Mičić i sar., 1987).

Prema Bulatoviću (1985), na letorastima oraha nalaze se pupoljci koji se razlikuju po veličini: terminalni su krupniji, jajasto-okruglasti, sa 2-4 spoljne, sivosmeđe, fino maljave ljuspe, dok su bočni pupoljci sitniji, ponekad u seriji – jedan nad drugim. Mičić i sar. (1987) su ispitivali morfološke karakteristike zimskih pupoljaka oraha i utvrdili da se u periodu mirovanja na letorastima oraha nalaze vegetativni pupoljci i dve vrste generativnih pupoljaka: nerazvijene rese i mešoviti pupoljci.

Prema Mičiću (1992), na segmentiranoj osovini vegetativnog pupoljka izdiferencirani su začeci lisnih drški sa 5-7 primordija listova, koje su gusto obrasle dlačicama. U pazuhu lisne drške nalazi se zaostalo meristemsko tkivo, iz kojeg se početkom vegetacije diferenciraju novi pupoljci.

Барна i Мацјук (2011) smatraju da se u početku njihove diferencijacije, muški i ženski pupoljci oraha mogu smatrati istovetnim, a tek sa pojavom andreceuma i gineceuma pupoljci poprimaju morfološke karakteristike koje ukazuju na pripadnost određenom polnom tipu.

Mešoviti pupoljci oraha ne razlikuju se po spoljašnjem izgledu i veličini od vršnih vegetativnih pupoljaka. Bočni mešoviti pupoljci imaju isti, kupolast, oblik kao i vršni i time se jasno razlikuju od bočnih vegetativnih pupoljaka, koji su loptastog oblika i znatno sitniji (Mičić i sar., 1987). Stepen diferenciranosti vegetativnih i generativnih organa u mešovitim pupoljcima u periodu mirovanja može biti vrlo različit i kreće se od morfološki potpuno diferenciranih začetaka cvetova i vegetativnih organa (kruška, jabuka, ribizla itd.), do delimično diferenciranih generativnih organa (leska, orah, dunja i dr.) ili čak samo inicijalnih tkiva za diferencijaciju generativnih i vegetativnih organa (kesten, smokva itd.) (Lučić i sar., 1996). Na segmentiranoj osovini mešovitog pupoljka oraha izdiferencirani su u baznom delu začeci lisnih drški sa nekoliko primordija listova, u čijim se pazusima nalazi zaostalo meristemsko tkivo u vidu kvržice, iz kojeg se u toku sledeće vegetacije mogu formirati vegetativni ili generativni pupoljci. Na samom vrhu osovine mešovitog pupoljka nalaze se izdiferencirane brakteje, koje u svom pazuhu nose začetke ženskih cvetova (Mičić i sar., 1987; Sabatier i Barthélémy, 2001).

Iz mešovitih pupoljaka oraha razvijaju se mladari sa listovima, koji na vrhu nose cvetove (Korać, 1987). Sabatier *et al.* (2003) su na mladarima oraha utvrdili prisustvo različitih kategorija listova. Mauseth (1988) i Tromp (2005) razlikuju, u zavisnosti od funkcije i morfoloških karakteristika, sledeće tipove listova: donji listovi, srednji listovi i gornji listovi. Prema Lučiću i sar. (1996), donji listovi predstavljaju prve listove mladara. Njihove primordije u toku diferencijacije imaju pojačan rast donjeg dela lista i potpuno kočenje razvoja gornjeg dela lista. Diferenciraju se u ljuspaste listiće pupoljka i prelazne listove (koji se nalaze u bazi mladara, u čijim pazusima najčešće nisu izdiferencirani pupoljci). Srednji listovi su pravi listovi, koji se u toku vegetacije nalaze na mladaru i vrše asimilaciju. Gornji listovi nastaju na vrhovima plodonosnih prirasta, iznad zone pravih listova, a prema zoni cvetova ili cvasti. Morfološki često podsećaju na donje listove. U tipičnom obliku oni se javljaju kao zalisci cvetova ili cvasti (pokrovni listovi ili brakteje), a kod mnogih vrsta učestvuju u izgradnji ploda. Sabatier i

Barthélémy (2001) navode da su ljustasti listići oraha okrugli i kožasti i da su na primordijama pravih listova oraha, za razliku od donjih listova, uočljivi začeci liski.

U domaćoj literaturi mali broj autora bavio se detaljnije biologijom ženskih cvetova oraha (Janković, 1998; Janković, 2002; Janković *et al.*, 2013), dok su Jelenković (1983), Bulatović (1985), Korać (1987), Mičić i sar. (1987) i Mičić (1992) u tom pogledu dali samo najosnovnije informacije. I u dostupnoj stranoj literaturi ima znatno manje informacija iz ove oblasti nego kada je u pitanju većina drugih vrsta voćaka. Prvi obiman opis morfoloških karakteristika ženskih cvetova oraha izvršio je Van Tieghem (1869). Značajan naučni doprinos ovoj problematici dali su Karsten (1902), Nicoloff (1904, 1905), Benson i Welsford (1909), Nast (1935) i Manning (1940), čija istraživanja i danas predstavljaju značajnu osnovu pri proučavanju građe i procesa razvitka ženskih cvetova u celini i pojedinih njihovih delova. Zahvaljujući studijama koje su obavili Leroy (1955) i Boesewinkel i Bouman (1967) unapređena su saznanja u oblasti histogeneze pojedinih delova semenog zametka oraha. Pored toga što se određeni broj istraživača posvetio proučavanju različitih, veoma važnih aspekata u oblasti morfologije i fiziologije ženskih cvetova oraha (Ramina, 1969; Germain *et al.*, 1973; Germain *et al.*, 1975; Lin *et al.*, 1977; Литвак i Пынтя, 1987; Цуркан i Пынтя, 1987; Catlin i Polito, 1989; Luza i Polito, 1991; Polito i Pinney, 1997; i Polito, 1998), veliki broj značajnih pitanja i dalje je ostao nerazjašnjen.

U vreme cvetanja, ženski cvetovi se nalaze pojedinačno ili u cvastima (klasovima) od 2–3 cveta, na vrhovima plodonosnih mladara, koji se u proleće razvijaju iz mešovitih pupoljaka, diferenciranih u protekloj vegetaciji (Manning, 1978; Polito, 1998). Ženski cvetovi oraha su sitni, maljav, zelene boje, bez kruničnih listića, sa četiri zelena i neugledna čašična listića (Germain *et al.*, 1975; Hickey i King, 1981; Spichiger *et al.*, 2004). Tučak je potcvetan, nastao srastanjem dve karpelje (Manning, 1978; Hickey i King, 1981). Tučak je većim delom obavijen involukrumom, u čijoj izgradnji učestvuju čašični listići, brakteja i dve brakteole (Stone, 1993; Polito, 1998; Manos i Stone, 2001). U donjem delu involukruma srasli delovi se ne mogu pojedinačno razlikovati, dok su u njegovom vršnom delu oni uočljivi u vidu jezičastih izraštaja (Nast, 1935; Spichiger *et al.*, 2004). Površina involukruma je lepljiva usled prisustva smolaste materije, koju izlučuju žlezdane dlake, gusto raspoređene na njegovoj površini. Klapina zrelih plodova nastaje uglavnom od tkiva involukruma (Polito, 1998). Tučak se sastoji od zadebljalog

plodnika, kratkog stubića i krupnog žiga (Nast, 1935; Polito, 1998). Žig je dvoperast, jako naboran, velike površine i prekriven lepljivom tečnošću, tako da je prilagođen da hvata polenova zrna koja nosi vetar (Germain *et al.*, 1975). Lepljivi sloj koji se izlučuje na površini žiga predstavlja povoljan medijum za hidrataciju polenovih zrna, klijanje i početni rast polenovih cevčica (Krueger, 2000).

Zid plodnika zatvara plodnikovu šupljinu, koja je dvema pregradama (velikom i malom) izdeljena na četiri dela. Mala pregrada nalazi se u ravni šava buduće ljuske, a velika je normalna na nju (Nast, 1935; Polito, 1998). Šupljine koje nastaju u plodniku formiranjem velike i male pregrade ispunjavaju krilasti izraštaji. Formirani krilasti izraštaji sastoje se od krupnih, tankozidnih ćelija, koje se zrakasto prostiru od centra placente (Nast, 1935). U toku zrenja ploda, od pregrada se stvara glavovina sunderastog omotača jezgre. Ostatak sunderastog omotača i ljuska obrazuju se od tkiva zida plodnika (Polito, 1998).

U osnovi plodnikove šupljine formira se jedan ortotropan (prav) semeni zametak (Nast, 1935; Manning, 1940). Semeni zametak oraha sastoji se od centralnog dela (nucelusa), koji čini glavnu masu semenog zametka u vreme cvetanja, i jednog omotača (integumenta), koji obavija nucelus (Nast, 1935; Manning, 1940; Boesewinkel i Bouman, 1967). U nucelusu se obrazuje embrionova kesica *Polygonum* tipa. U vreme oprašivanja, većina embrionovih kesica sadrži jajnu ćeliju i dve sinergide na mikropilarnom kraju, dva polarna jedra u centru i tri antipodalne ćelije na halaznom kraju (Цуркан и Пынтя, 1987; Janković, 2002). Embrionova kesica se nalazi najčešće 8-10 slojeva ćelija ispod površine nucelusa, a retko kada je postavljena dublje od 12 slojeva ćelija u vreme oplodjenja (Nast, 1935).

Friedman i Barrett (2008) su izneli statističke dokaze da anemofilne biljke imaju sitnije cvetove nego biljke kod kojih oprašivanje vrše insekti. Prema Spichiger *et al.* (2004) ženski cvetovi oraha su sitni. Hickey i King (1981) navode da dužina ženskih cvetova oraha iznosi u proseku 9-12 mm, a prečnik plodnika 3-4 mm. Pollegioni *et al.* (2013) su utvrdili da je prosečna dužina ženskih cvetova u fenofazi pune receptivnosti žigova kod 11 genotipova običnog oraha (*J. regia*) iznosila 10,6 mm, a prečnik plodnika 2,47 mm. Prema istim autorima, dimenzije ženskih cvetova crnog oraha (*Juglans nigra*) bile su veće približno za jednu trećinu u odnosu na dimenzije ženskih cvetova običnog oraha.

Endress (2011) navodi da je kod većine biljnih vrsta dužina semenih zametaka u vreme oplodjenja oko 0,5 mm. Malim semenim zamecima smatraju se oni koji imaju dužinu oko 0,15 mm, dok kod pojedinih vrsta oni mogu da dostignu i 2 mm. Manning (1978), Литвак i ПЫНТЯ (1987) i Stone (1993) navode da je semeni zametak običnog oraha krasinucelatnog tipa, što znači da se između epidermisa i embrionove kesice nalazi jedan ili više slojeva ćelija. Nucelusi krasinucelatnih semenih zametaka po pravilu sadrže veći broj slojeva ćelija, ali su tenuinucelatni semeni zameci (kod kojih se između epidermisa i embrionove kesice ne nalazi subepidermalno tkivo) obično veći nego krasinucelatni (Greenway i Harder, 2007). Kozai *et al.* (2005) su utvrdili da između dimenzija plodnika i dimenzija semenog zametka postoji srednje jaka do jaka korelacija.

Proces formiranja cvetova može se podeliti na tri faze: 1) indukcija, 2) inicijacija i 3) diferencijacija (Durner, 2013). U toku indukcije cvetova, apikalni meristem pupoljka, koji je do tog momenta bio vegetativnog tipa, prelazi u generativnu fazu razvitka i programira se da stvara cvetove (Tromp, 2005). Promene koje se dešavaju u procesu indukcije cvetova biohemijskog su karaktera i vrše se na ćelijskom nivou, bez spoljašnjih vizuelnih znakova (Greene, 1996). Inicijacija cvetova podrazumeva prve vidljive morfološke promene na apikalnom meristemu koje su posledica njegove generativne aktivnosti (Durner, 2013). Posle inicijacije začetaka cvetova, vrši se diferencijacija njihovih različitih delova, koji postaju vidljivi na makroskopskom planu (Tromp, 2005; Durner, 2013).

Цуркан i ПЫНТЯ (1987) navode da najpouzdaniji znak za ulazak apikalnog meristema mešovitog pupoljka oraha u generativnu fazu razvoja predstavlja inicijacija brakteje. Za razliku od njih, Lin *et al.* (1977) su zaključili da je prva morfološka promena koja nagoveštava početak diferencijacije ženskih cvetova oraha proširivanje apikalnog meristema. Gao *et al.* (2012) utvrdili su da se indukcija ženskih cvetova kod protandrične sorte Liaoning 1 vrši od kraja aprila do kraja maja. Ovaj proces sastoji se od rane, srednje i kasne faze, pri čemu srednja faza ima ključnu ulogu za započinjanje indukcije cvetova.

Razvitak ženskog cveta oraha je akropetalan. Inicijacija i diferencijacija njegovih delova vrši se po sledećem redosledu: involukrum, perijant, plodnik, centralna placenta, pregrade u plodnikovoj šupljini, semeni zametak, krilasti izraštaji (Nast, 1935). Цуркан



i ПЫНТЯ (1987) su na osnovu anatomsko-morfoloških promena u procesu morfogeneze ženskih cvetova oraha izdvojili sledeće mikrofenofaze: I - pojava generativnog meristema; II - obrazovanje začetaka cvetova; III - pojava začetaka čašičnih listića; IV - pojava začetaka semenog zametka i žigova i formiranje arhesporijalnog tkiva; V - mejoza i obrazovanje tetraada makrospora; VI - dvojedarna embrionova kesica; VII - osmojedarna embrionova kesica; i VIII - zrela embrionova kesica.

Xia i Xi (1989) su utvrdili da se inicijacija cvetova u mešovitim pupoljcima oraha dešava 3-7 nedelja posle prestanka rasta mladara. Lin *et al.* (1977) su ispitivali proces formiranja ženskih cvetova kod sedam sorti oraha u Kaliforniji i utvrdili da on započinje kod sorti koje rano listaju u prvoj polovini juna, a kod sorti Hartley i Franquette, koje se odlikuju poznim listanjem, sredinom jula. Takođe u uslovima Kalifornije, Polito i Li (1985) utvrdili su da je 8-10 nedelja posle punog cvetanja bila završena inicijacija novih organa u ženskim cvetovima, a dalji razvitak zametnutih organa bio je veoma usporen. Kod protandričnih sorti primordije ženskih cvetova ušle su u period zimskog mirovanja sa iniciranim prstenom involukruma, dok su kod protoginičnih sorti na primordijama cvetova bile vidljive primordije čašičnih listića. Janković i sar. (2007) utvrdili su da diferencijacija cvetova u mešovitim pupoljcima oraha u uslovima Čačka, u zavisnosti od genotipa, počinje u toku druge i treće dekade juna. Kod protandričnih genotipova do kraja vegetacionog perioda bili su diferencirani začeci osovina ženskih cvetova, sa ili bez iniciranog prstena involukruma, dok su kod protoginičnih genotipova začeci ženskih cvetova imali inicirane primordije čašičnih listića.

Polito i Li (1985) navode da se u proleće, nastavlja morfogeneza ženskih cvetova, pri čemu ona teče intenzivnije kod protandričnih sorti, koje na taj način nadoknađuju zaostatak u morfogenezi iz prethodne vegetacije. Krajem prve dekade marta, na začecima cvetova formiraju se primordije perijanta. Posle dve nedelje (krajem marta) sa unutrašnje strane primordija perijanta počinju da se iniciraju dve primordije karpela (Gao *et al.*, 2012), koje ubrzo srastaju i formiraju sinkarpni tučak (Polito, 1998). U vreme kada zid plodnika počinje da intenzivno raste, formira se najpre primarna pregrada plodnikove šupljine, a nešto kasnije, obrazuje se i sekundarna pregrada u ravni koja je normalna na primarnu pregradu. Šupljine koje nastaju formiranjem ovih pregrada počinju da ispunjavaju krilasti izraštaji (Nast, 1935). Ubrzo pošto započne srastanje primordija karpela, u središtu plodnikove šupljine počinje diferencijacija

semenog zametka (Abbe, 1974). Krilasti izraštaji za vreme rasta semenog zametka takođe povećavaju svoje dimenzije, popunjavajući prazan prostor između semenog zametka i unutrašnjeg zida plodnika, ali bez srastanja sa njima (Nast, 1935; Литвак и ПЫНТЯ, 1987).

U toku poslednje nedelje pred cvetanje ženskih cvetova dovršava se formiranje tučka (Polito, 1998). Cvetanje ženskih cvetova manifestuje se razmicanjem perastih žigova (Germain *et al.*, 1973). Maksimalnu prijemčivost za polen žigovi oraha imaju od momenta kada počne razmicanje njihovih režnjeva do momenta kada ugao između režnjeva iznosi  $45^\circ$ . Posle toga, prestaje lučenje lepljivog eksudata na površini žigova, koji ima ulogu da prihvati polen i omogući njegovu klijanje (Polito, 1998). Prema Koraću i sar. (2001) cvetanje ženskih cvetova kod novosadskih sorti i selekcija oraha nastupilo je prosečno od 1. do 13. maja, a prema Miletiću i sar. (2002), u populaciji oraha u Timočkoj krajini ženski cvetovi se otvaraju u toku prve i druge dekade maja.

Formiranje makrospore, a zatim i makrogametofita dešava se u semenom zametku (Raghavan, 1997; Bhojwani i Bhatnagar, 2011). U uslovima Čačka, inicijacija semenog zametka, zavisno od genotipa, vrši se krajem marta i u toku aprila (Janković i sar., 2007). Za inicijaciju semenog zametka odgovorna je grupa subepidermalnih ćelija placente, koje se dele antiklinalnim i periklinalnim deobama i najpre obrazuju primordiju nucelusa (Савченко, 1973). U ranoj fazi razvitka nucelusa u njegovoj osnovi inicira se začetak integumenta (Abbe, 1974). Integument raste brže od nucelusa, obavija ga i formira na vrhu semenog zametka mikropilarni otvor (Nast, 1935).

Približno u vreme kada integument dostigne polovinu svoje konačne visine, u bazi semenog zametka diferencira se snopić prokambijalnog tkiva, čijim se radom obrazuju elementi provodnog tkiva u pravcu halaze. Njegovim rastom poboljšava se pritanje hranljivih materija u semeni zametak (Литвак и ПЫНТЯ, 1987). S obzirom da su provodni snopići koji dolaze iz placente slabo razvijeni i da pre oplodjenja oni ne dosežu dalje od osnove integumenta, Литвак и ПЫНТЯ (1987) smatraju da tankozidne ćelije halaze imaju glavnu ulogu u ishrani embrionove kesice jer predstavljaju morfološku i fiziološku vezu između nje i provodnih snopića placente.

U subepidermalnoj zoni nucelusa nastaje jedna ili više arhesporijalnih ćelija, od koje se, nakon složenih citogenetičkih procesa, formira ženski gametofit (Nast, 1935). Iako je više autora utvrdilo postojanje viševićijskog arhesporijuma kod oraha, u većini

slučajeva samo jedna arhesporijalna ćelija nastavlja razvitak u materinsku ćeliju makrospore (Nast, 1935; Литвак i Пынтя, 1987).

Oko šest dana pre punog cvetanja ženskih cvetova oraha materinska ćelija embrionove kesice započinje mejozu (Sartorius i Stösser, 1997). Tetrade su poredane linearno, jedna iznad druge, pri čemu su tri ćelije bliže mikropili sitnije od tetrade koja je najbliža halazi (Nast, 1935). Литвак i Пынтя (1987) su kod nekih genotipova oraha u pojedinim slučajevima pronašli tetrade makrospora koje su imale „T“ formu. Autori su smatrali da je ovakav izgled tetrada posledica veće krupnoće najniže makrospore.

U procesu makrogametogeneze kod oraha formira se monosporna, bipolarna, osmojedarna embrionova kesica *Polygonum* tipa (Nast, 1935; Stone, 1993; Sartorius i Stösser, 1997). Proces formiranja ovakve embrionove kesice, počevši od inicijalne makrospore, Weier *et al.* (1974) podelili su na sledeće faze: 1) serija mitotičkih deoba jedra makrospore; 2) migracije novonastalih jedara; 3) formiranje ćelija oko nastalih jedara.

Prva mitotička deoba jedra makrospore vrši se u momentu punog cvetanja ženskih cvetova (Sartorius i Stösser, 1997). Svako od nastalih jedara deli se ponovo mitotičkom deobom i na taj način se formira četvororedarna embrionova kesica. Ubrzo, nakon još jedne mitoze jedara, nastaje osmojedarni stadijum embrionove kesice, koji se fenološki poklapa sa završetkom fenofaze cvetanja ženskih cvetova. U tom momentu integument dostiže 70-80% svoje pune veličine (Janković, 2002). Dva jedra, po jedno sa svakog pola (polarna jedra), migriraju prema centru ćelije, gde se procesom njihove fuzije formira sekundarno jedro embrionove kesice (Nast, 1935; Литвак i Пынтя, 1987).

U toku migracije polarnih jedara započinje citokineza embrionove kesice, odnosno formira se njena karakteristična sedmoćelijska struktura (Nast, 1935). Formiranje ćelija embrionove kesice oraha vrši se sledećim redosledom: antipode, sinergide, jajna ćelija (Литвак i Пынтя, 1987). Na halaznom kraju embrionove kesice formiraju se tri relativno sitne antipodijalne ćelije, čija diferencijacija teče brzo i koje se zatim rano degenerišu (Nast, 1935; Sartorius i Stösser, 1997). Oko jedara sinergida izdvaja se citoplazma mikropilarnog dela embrionove kesice, formira se ćelijska membrana sinergida i one dobijaju svoju karakterističnu kruškastu formu (Литвак i Пынтя, 1987). Zatim dolazi do formiranja jajne ćelije sa krupnim jedrom prema halazi i razvijenom vakuolom ka mikropilarnom polu (Nast, 1935). Prema Nast (1935), vreme

potrebno da se od materinske ćelije makrospore formira embrionova kesica potpuno spremna za oplodjenje iznosi oko 7-12 dana, dok su Sartorius i Stösser (1997) utvrdili da se kompletna embrionova kesica oraha diferencira do osam dana po punom cvetanju, zavisno od vremenskih uslova. Nast (1935), Литвак и Пынтя (1987) i Janković (2002) konstatovali su da između mikrofenofaza u morfogenezi integumenta i stadijuma u procesu fomiranja embrionove kesice postoji koincidencija.

### 3.3. Morfološke karakteristike muških reproduktivnih organa

Muški cvetovi oraha su grupisani u cvasti (rese), koje se zameću u pazuhu listova mladara, pojedinačno ili u grupama od dva serijalna pupoljka, u godini koja prethodi cvetanju (Soltész *et al.*, 2003). Prema Mičiću i sar. (1987), u periodu zimskog mirovanja, rese oraha su izduženo konusnog oblika i imaju izgled malih šiškarki tamno smeđe boje. Na osovini rese izdiferencirani su predlistići sa braktejama, koje u svojim pazusima nose muške cvetove sa većim brojem antera svetlozelene boje. Korać (1987) navodi da se rese oraha na letorastima nalaze obično bliže njegovoj osnovi. U vreme otvaranja pupoljaka, rese oraha su zelenkastobraon boje, a kad dostignu debljinu olovke, one postaju svetlo zelene, meke i rastresite. Kada muški cvetovi počnu da cvetaju, rese imaju viseći položaj na granama (Germain *et al.*, 1975).

Dužina razvijenih resa i broj muških cvetova po resi razlikuju se među vrstama oraha, kao i između genotipova unutar vrsta (Mert, 2010). Molina *et al.* (1996) konstatovali su da orah u odnosu na ostale anemofilne vrste stvara malo muških cvasti (85-300 po stablu). Prema ovim autorima, u zavisnosti od genotipa, rese oraha su sadržale 95-300 muških cvetova. Germain *et al.* (1975) navode da rese oraha sadrže oko 100 do 160 muških cvetova, spiralno raspoređenih duž osovine rese. Dužina resa nije u korelaciji sa brojem muških cvetova, već sa veličinom cvetova.

Pojedinačni muški cvetovi oraha su sitni, neugledni, bez kruničnih listića, sa četiri zelena čašična listića, koji grade perijant. Sa spoljašnje strane perijanta nalaze se dve maljave brakteole i jedna brakteja, a sa njegove unutrašnje strane gusto su raspoređeni prašnici (Polito, 1998). Prema Kruegeru (2000), kalifornijske sorte oraha sadrže prosečno 40 prašnika po cvetu, dok Molina *et al.* (1996) navode da je u njihovim istraživanjima broj prašnika po cvetu iznosio 9-23. Prema Germain *et al.* (1975), muški cvetovi, u zavisnosti od položaja na resi, mogu imati 2-32 prašnika. Broj prašnika u

cvetovima smanjuje se od osnove prema vrhu rese. U istraživanjima koja su sproveli Impiumi i Ramina (1967), cvetovi u osnovi resa imali su prosečno 18 prašnika, a cvetovi na vrhu resa 13 prašnika.

Prašnik oraha sastoji se od prašničkog konca (filamenta) i antere. Prašnici imaju vrlo kratke filamente (1-2 mm), tako da antere izgledaju kao da su direktno pričvršćene za cvet (Germain *et al.*, 1975). Antere se sastoje od dve poluantere, međusobno razdvojene konektivom, kojeg čine sprovodni snopić i parenhimsko tkivo. Svaka poluantera sadrži po dve polenove kesice (mikrosporangije), u kojima se stvara polen (Polito, 1998). Tkivo koje obavija anteru sastoji se od epidermisa, endotecijuma, središnjeg sloja i tapetuma. Zrele mikrosporangije sadrže potpuno formirana polenova zrna i degradirani tapetum (Mert, 2010).

Forde (1981) navodi da jedna resa može da proizvede oko dva miliona polenovih zrna. Impiumi i Ramina (1967) su utvrdili da jedna antera prosečno sadrži 900 polenovih zrna, što znači da jedna resa proizvede prosečno oko 1,8 miliona polenovih zrna. Antere tri spontana sejanca oraha koje su proučavali Molina *et al.* (1996) sadržale su od 1700 do 7200 polenovih zrna. Prema Mert (2010), u jednoj anteri, u zavisnosti od sorte, obrazuje se od 4720 do 9840 polenovih zrna. Sütyemez (2007) je u okviru 32 sorte oraha našao da antera prosečno sadrži od 5875 do 7666 polenovih zrna, procenjujući da prosečan broj polenovih zrna po resi iznosi 11,2–17,6 miliona, a po stablu 5–100 milijardi.

Muški cvetovi se na resi otvaraju akropetalno (od osnove rese prema vrhu). Cvetovi u osnovi rese su krupniji, a na njenom vrhu su sitniji (Germain *et al.*, 1975). Po otvaranju muških cvetova, antere postaju žute i počinju da oslobađaju polen (Soltész *et al.*, 2003).

Potpuno razvijene rese oraha su duge 5-22 cm (prosečno 10-11 cm), a široke 8-10 mm (Germain *et al.*, 1975). Hickey i King (1981) navode da dužina resa oraha iznosi prosečno 70 mm, a širina 8-10 mm. Prema istim autorima, antere oraha su prosečno duge oko 2 mm i široke 0,75 mm. Mert (2010) je utvrdila da je u kolekciji osam turskih i američkih sorti oraha prosečna dužina antera varirala od 1,41 mm do 2,55 mm, a širina od 0,85 mm do 1,15 mm. Autorka je na osnovu dužine i širine antere zaključila da antere, u zavisnosti od sorte, pripadaju perprolatnom ili prolatnom tipu.

Molina *et al.* (1996) navode da je dužina antera kod tri sejanca oraha iznosila 1,7-2,4 mm, pri čemu je uticaj genotipa bio značajan.

Luza i Polito (1988a) su zaključili da je razvitak muških cvetova oraha manje izučavan u odnosu na razvitak ženskih cvetova i da u literaturi nedostaju uporedne ontogenetske studije muških cvetova različitih genotipova oraha.

Sattler (1973) je opisao organogenezu muških cvetova američkog sivog oraha (*J. cinerea*). Germain *et al.* (1975) proučavali su ontogenezu resa od momenta indukcije resa do momenta pucanja antera i njihovog sušenja. Uzimajući kao glavne kriterijume morfološke manifestacije razvitka resa i muških cvetova, autori su podelili ovaj proces na 14 stadijuma. Цуркан і Пынтя (1987) su proučavali u uslovima Ukrajine morfogenezu muških reproduktivnih organa kod devet genotipova oraha i dali uporedni prikaz mikrofenofaza u ontogenezi resa i histoloških promena koje se dešavaju u sporogenom tkivu antera. Luza i Polito (1988a) su proučavali u uslovima Kalifornije proces diferencijacije resa i muških cvetova od početka avgusta do završetka cvetanja sledećeg proleća kod tri protandrične i tri protoginične američke sorte i utvrdili da tip dihogamije utiče na fenološki model morfogeneze resa i na dinamiku diferencijacije muških cvetova. Барна і Мацюк (2011) su na osnovu specifičnih strukturnih i funkcionalnih karakteristika pojedinih faza u ciklusu organogeneze muških reproduktivnih organa protandričnih i protoginičnih genotipova oraha u uslovima Ukrajine definisali sledećih devet sukcesivnih stadijuma: 1 – zametanje vegetativne kupe mladara; 2 - formiranje muškog generativnog pupoljka; 3 – formiranje primordija brakteja; 4 – formiranje primordija muških cvetova; 5 – formiranje začetaka prašnika; 6 – formiranje mikrosporangija; 7 – formiranje mikrospora; 8 – formiranje mikrogametofita; 9 – formiranje mikrogameta. Sličan pristup u definisanju faza ciklusa organogeneze muških generativnih organa imali su Janković i sar. (2005). Gao *et al.* (2014) su proces morfogeneze muških cvetova i cvasti kod dve kineske sorte oraha podelili na sedam faza. Autori su pokušali da razviju model koji omogućava da se na osnovu spoljašnjih morfoloških promena na muškim reproduktivnim organima vrši praćenje histogenetskih promena u njihovoj unutrašnjosti.

Razvitak muških reproduktivnih organa kod oraha nastupa znatno ranije nego razvoj ženskih reproduktivnih organa (Цуркан и Пынтя, 1987; Барна і Мацюк, 2011). Indukcija muških cvetova počinje rano, neposredno po otvaranju pupoljaka (Germain

*et al.*, 1975). Zametanje muških cvasti u uslovima Moldavije dešava se krajem aprila i početkom maja. Začeci resa se pojavljuju u pazusima listova u vreme intenzivnog rasta listova (Цуркан и Пынтя, 1987). Organogeneza muških reproduktivnih organa kod protandričnih genotipova oraha dešava se ranije u poređenju sa protoginičnim genotipovima (Барна і Мацюк, 2011). Prvi znaci diferenciranja prašnika u začecima cvetova ispoljavaju se u resama obično početkom juna, kada rese dostignu 2-2,5 mm u prečniku (Цуркан и Пынтя, 1987). Luza i Polito (1988a) utvrdili su da su do avgusta u anterama protandričnih sorti oraha bile izdiferencirane mikrosporangije, dok je kod protoginičnih sorti diferencijacija antera znatno kasnila. Kod svih šest proučavanih sorti oraha do kraja perioda mirovanja nije bilo drugih promena. Germain *et al.* (1975) su takođe došli do zaključka da se u toku leta rese malo razvijaju. Mičić i sar. (1987) su u periodu zimskog mirovanja u primordijama antera jasno razlikovali poluantere sa formiranim arhesporijumom.

Kod protandričnih sorti oraha nastavak diferencijacije muških cvetova u proleće započinje znatno ranije nego kod protoginičnih sorti (Luza i Polito, 1988a). Kad rese dostignu u proleće dužinu oko 2 cm, u anterama se već nalaze formirana polenova zrna (Барна і Мацюк, 2011). Rese su tada još čvrste i koso postavljene u odnosu na grančicu. Boja im se potom postepeno menja od svetlozelene u tamnozelenu. Rese ubrzo gube čvrstinu, muški cvetovi se razdvajaju i počinju da se otvaraju, a antere počinju da žute, pucaju i oslobađaju polen (Germain *et al.*, 1975). Oslobađanje polena počinje najpre u cvetovima koji se nalaze u osnovi rese (Polito, 1998). Korać i sar. (2001) su u toku trogodišnjih istraživanja ustanovili da je među novosadskim sortama i selekcijama oraha početak resanja u ekološkim uslovima Vojvodine nastupio najpre kod sorte Bačka (prosečno 21. aprila), a najkasnije kod selekcije Kasni rodni (13. maja). Prema Miletiću i sar. (2002), period prašenja resa u populaciji oraha u Timočkoj krajini trajao je od treće dekade aprila do polovine maja.

Proces polnog razmnožavanja voćaka počiva na smeni generacija, diploidnog sporofita i haploidnog gametofita. Sporofit nastaje od oplodene jajne ćelije (zigota) i predstavlja bespolnu generaciju. U sporofitu se putem mejoze obrazuju haploidne spore. Proces obrazovanja sitnih spora (polenovih zrna) naziva se mikrosporigeneza (Mičić, 1987). Formiranje mikrospora vrši se u polenovim kesicama, koje vrše ulogu mikrosporangija (Knox, 1984). Gametofit predstavlja polnu generaciju, koja nastaje od

haploidne spore. U gametofitu se stvaraju haploidne ćelije - gameti. Proces stvaranja muških gameta naziva se mikrogametogeneza (Mišić, 2002). Muški gametofit u biološkom smislu predstavlja mikroorganizam, sastavljen iz nekoliko ćelija, koji je sposoban da samostalno egzistira duže ili kraće vreme izvan matične biljke (Bedinger, 1992). U razvijenom muškom gametofitu oraha obrazuju se dva muška gameta (Polito, 1998).

Mikrosporogenezom oraha bavio se mali broj istraživača. Woodworth (1930) je prvi opisao faze mejoze kod različitih rodova i vrsta u okviru familije *Juglandaceae* i zaključio da kod vrste *J. regia* mejoza ima regularan tok i da kao njen produkt nastaju četiri normalne tetrade. Autor je utvrdio da haploidan broj hromozoma kod običnog oraha iznosi 16. Цуркан и Пынтя (1987) su u okviru procesa formiranja polenovih zrna oraha definisali sledeće stadijume: I – formiranje arhesporijuma; II – mejoza; III – stadijum jednojedarnih polenovih zrna; IV – stadijum dvojedarnih polenovih zrna; V – stadijum zrelih plenovih zrna. U zavisnosti od genotipa, pojavu primarnog arhesporijuma autori su registrovali najranije početkom druge dekade avgusta, a najkasnije početkom treće dekade septembra. Luza i Polito (1988a) su proučavali mikrosporogenezu kod šest sorti oraha i dali su detaljan opis karakterističnih faza ovog procesa, utvrdivši da njegova dinamika zavisi od tipa dihogamije. Ramina (1969) je proučavao ontogenezu cvetova sorte oraha Sorrento i utvrdio da su u julu u polenovim kesicama bile diferencirane materinske ćelije makrospore. Radicati di Brozolo *et al.* (1990) su krajem novembra u anterama protandričnih sorti oraha uočili prisustvo sporogenog tkiva sa okruglastim ćelijama na poprečnom preseku. Luza i Polito (1988a) su utvrdili da su kod svih šest proučavanih sorti oraha u uslovima Kalifornije do kraja marta sporogene ćelije bile spremne za mejozu, a kod protandričnih sorti ranog kretanja vegetacije bile su formirane tetrade. Heslop-Harrison (1964) navodi da su pred početak mejoze mikrosporocite u prašničkoj kesi povezane plazmodezmama međusobno, kao i sa ćelijama tapetuma. Radicati di Brozolo *et al.* (1990) su utvrdili da su mikrosporocite sa karakterističnim kaloznim zidom bile vidljive kod ranih sorti oraha u prvoj polovini marta, a kod poznih sorti tek u drugoj polovini marta. Depozicija kaloze obično počinje na uglovima ćelija između plazma membrane i ćelijskog zida (Bhojwani i Bhatnagar, 2011).



Mejoza najpre počinje u cvetovima u osnovi rese, tako da je čest slučaj da se u donjim cvetovima rese nalaze već formirane tetrade, dok su u vršnim cvetovima još prisutne mikrosporocite (Radicati di Brozolo *et al.*, 1990). Latorse (1985) navodi da se mejoza u anterama sorti Serr i Franquette dešava jedan mesec pre punog cvetanja muških cvetova.

Luza i Polito (1988a) su detaljno opisali proces mejoze oraha, zaključivši da mejoza protiče normalno i sinhrono u okviru jedne polenove kesice. Po završetku mejoze, citoplazmatične veze između mikrospora se prekidaju, svaka mikrospora biva izolovana debelim kaloznim zidom, da bi zatim ubrzo počela da stvara sopstveni ćelijski zid, primegzinu. Luza i Polito (1988a) i Johri *et al.* (1992) navode da se citokineza kod oraha vrši po simultanom tipu. Za razliku od sukcesivnog tipa citokineze, kod simultanog tipa obrazovanje ćelijskih zidova mikrospora vrši se stvaranjem brazdi koje se šire centripetalno i sreću se u centru ćelije, deleći je na četiri dela (Bhojwani i Bhatnagar, 2011). Luza i Polito (1988a) su utvrdili da su mikropore u tetradama raspoređene u tetraedarnom poretku, dok Johri *et al.* (1992) navode da je raspored mikrospora u tetradama oraha najčešće dekusiran.

Stadijum mikropore predstavlja početak generacije muškog gametofita. Starije mikropore, posebno nakon oslobađanja iz tetrada, smatraju se polenovim zrnom (Mauseth, 1988). Posle oslobađanja iz tetrada, mikropore za kratko vreme višestruko povećavaju svoju zapreminu. Ovo povećanje je posledica resorpcije tečnog sadržaja iz polenove kesice, a ne vakuolizacije citoplazme (Bhojwani i Bhatnagar, 2011).

U toku mikrogametogeneze, jedro polenovog zrna deli se mitozom, pri čemu nastaju vegetativna i generativna ćelija. Vegetativna ćelija je krupnija, a manja, generativna ćelija, u početku je pričvršćena za zid polenovog zrna, a kasnije se smešta u citoplazmu vegetativne ćelije (Bhojwani i Soh, 2001).

Kod oraha je polen koji je oslobođen iz antera dvoćelijski (Stone, 1993). Kod vrsta sa dvoćelijskim polenom generativna ćelija prolazi kroz stadijum privremenog mirovanja sa jedrom u profazi, a ređe u metafazi mitoze. Po pravilu, sinteza DNK u generativnom jedru počinje neposredno posle mitoze polena. Polenova zrna se oslobađaju iz antera u toku M faze ciklusa mitoze posle prolaska kroz G1 fazu (presintetski period), S fazu (stadijum sinteze DNK) i G2 fazu (pripremni stadijum za deobu jedra) (Bhojwani i Soh, 2001).

Polen se karakteriše jedinstvenim skupom osobina, kao što su: oblik, veličina, boja i struktura, koji su specifični za svaku vrstu, rod i familiju, što ga čini pogodnim objektom za primenu u determinaciji vrsta i sorti voćaka. Na morfološke karakteristike polenovih zrna ne utiču bitno faktori spoljašnje sredine (Evrenosoğlu i Misirli, 2009). Polen oraha je prilagođen za prenošenje vetrom i karakteriše ga specifičan oblik (Hickey i King, 1981). Oblik polena je definisan odnosom dužine polarne ose polena (P) i dužine ekvatorijalnog prečnika (E) (Hesse *et al.*, 2009). Polarna osa polena (mikrospore) povezuje proksimalni pol mikrospore (koji je bliži centru tetrade u toku mejoze) sa distalnim polom mikrospore (koji se nalazi na spoljašnjoj strani mikrospore u tetradi). Ekvatorijalna ravan polena normalna je na polarnu osu i deli polenovo zrno na proksimalnu i distalnu polovinu (Hesse *et al.*, 2009). Erdtman (1952) je izvršio klasifikaciju polena u deset kategorija na osnovu indeksa oblika polena, koji predstavlja odnos polarnog prečnika i ekvatorijalnog prečnika polena (P/E). Posmatrano sa polova, polenovo zrno oraha je skoro okruglo, a iz ekvatorijalne pozicije oblik mu je suboblatan (Evrenosoğlu i Misirli, 2009; Mert, 2010).

Kremp (1965) je klasifikovao polen prema veličini na sledeći način: polen manji od 10 µm je vrlo sitan, od 10 µm do 25 µm je sitan, od 26 µm do 50 µm je srednje veličine, od 51 µm do 100 µm je krupan, a preko 100 µm je vrlo krupan.

Zid polenovog zrna sastoji se od dve opne: egzine i intine. Egzina je spoljna, deblja opna, koja je izgrađena pretežno od sporopolenina i otporna je na acetolizu, na fizičku i biološku degradaciju. Sa unutrašnje strane egzine priljubljena je intina, tanka opna, izgrađena uglavnom od pektina i celuloze, čiji delovi ispunjavaju otvore u egzini (Polito, 1998; Mert, 2010). Egzinu čine dva sloja: unutrašnji – endegzina i spoljašnji – ektegzina. Ektegzina se sastoji iz bazalnog sloja, infratektuma i tektuma. Endegzina je obično nestrukturirani jednostavni sloj. Termin *segzina*, koji se koristi za spoljašnji, strukturirani sloj egzine, i *negzina*, koji označava unutrašnji, nestrukturirani sloj egzine, široko se koriste u svetlosnoj mikroskopiji, ali ne odgovaraju u potpunosti anatomskim pojmovima koje označavaju ektegzina i endegzina (Hesse *et al.*, 2009). Mert (2010) navodi da je prosečna debljina intine kod sorti koje je ona proučavala iznosila 82,1-200 nm, prosečna debljina egzine 793,1-1161,1 nm, a prosečna debljina zida polenovog zrna 954,4-1327,8 nm.

Površina egzine je prekrivena bodljama mikroskopske veličine (Evrenosoğlu i Misirli, 2009; Mert, 2010). U vreme cvetanja, polenova zrna nisu potpuno hidratizirana i najčešće imaju udubljenje sa polarne strane (Mert, 2010). Na egzini postoje brojni otvori (pore), koje služe za klijanje polenovih cevčica (Hesse *et al.*, 2009). Pore na egzini su okrugle, neobrbljene i rasute po celoj površini polenovog zrna (Evrenosoğlu i Misirli, 2009). Hesse *et al.* (2009) navode da kod oraha pore nisu raspoređene ravnomerno na površini polena. Prema Kapp *et al.* (2000), polenova zrna kod roda *Juglans* su heteropolarna: pore se nalaze na ekvatoru i samo na jednoj hemisferi.

### 3.4. Klijavost polena

Persijski orah (*Juglans regia* L.) je jednodomna (monoecijska), herkogama biljka, kod koje se oprašivanje vrši vetrom (McGranahan i Leslie, 2012). Orah je autofertilna vrsta, ali se kod većine genotipova period prašenja polena ne poklapa u potpunosti sa periodom receptivnosti ženskih cvetova, tako da je u komercijalnim zasadima oraha pored glavnih sorti neophodno gajiti i sorte oprašivače (Polito, 1998). Važan kriterijum pri izboru sorti oprašivača, kao i pri izboru muškog roditelja za hibridizaciju u procesu oplemenjivanja oraha je funkcionalna sposobnost polena.

Postoji više metoda za ispitivanje funkcionalne sposobnosti polena, među kojima su najvažnije: 1) *in vivo* test, koji podrazumeva praćenje rasta polenovih cevčica na žigu i u stubiću; 2) *in vitro* test na odgovarajućoj hranljivoj podlozi; 3) bojenje polena fluorescentnim materijama; 4) testiranje enzimske aktivnosti polena; i 5) testovi bojenja vegetativne ćelije polena (Galletta, 1983; Kearns i Inouye, 1993). Ispitivanje polena *in vivo* smatra se najverodostojnijim testom funkcionalne sposobnosti polena, koji je, međutim, veoma zahtevan u pogledu vremena i neophodne tehničke opreme. Različite tehnike bojenja omogućavaju brzo dobijanje rezultata, ali one ne otkrivaju stvarnu klijavost polena, već enzimsku aktivnost polenovih zrna ili integritet njihove membrane. U programima oplemenjivanja biljaka za ispitivanje vitalnosti polena najviše se koristi *in vitro* test jer je brz, jednostavan i pokazuje stvarnu klijavost polena u definisanim uslovima (Shivanna *et al.* 1991; Tuinstra i Wedel, 2000; Dantas *et al.*, 2005).

Klijanje polena u *in vitro* uslovima zavisi od više faktora, kao što su: vrsta voćaka, sorta, sastav podloge za naklijavanje, temperatura na kojoj se vrši naklijavanje, vreme

naklijavanja, stadijum razvitka cvetova u vreme sakupljanja polena, uslovi čuvanja polena i dr. (Stanley i Linskens, 1974).

Prema Heslop-Harrison *et al.* (1984), klijanje polena u *in vitro* testovima zavisi najviše od sastava podloge na kojoj polen klija. Brewbaker i Kwack (1963) su definisali hranljivu podlogu koja je sadržala 10% saharoze, 100 ppm borne kiseline, 300 ppm kalcijum nitrata, 200 ppm magnezijum sulfata i 100 ppm kalijum nitrata kao osnovu za ispitivanje klijavosti polena velikog broja biljnih vrsta. Šezdesetih godina prošlog veka bilo je više neuspelih pokušaja da se definiše odgovarajuća hranljiva podloga za klijanje polena oraha *in vitro* (Кавецька, 1964; Schanderl, 1964). Griggs *et al.* (1971) su utvrdili da polen oraha teško klija na veštačkim podlogama i da, pored agara i saharoze, zahteva prisustvo borne kiseline i kalcijuma. Holdaway-Clarke *et al.* (2003) navode da koncentracije jona kalcijuma, vodonika i bora u hranljivoj podlozi predstavljaju važne faktore za klijanje polena, čiji efekat nije u potpunosti razjašnjen.

Uloga agara u hranljivim podlogama je da omogući sjedinjavanje saharoze i drugih materija koje stimulišu klijanje polena i da održava stabilnu vlažnost i odgovarajuće aerobne uslove (Stanley i Linskens, 1974). Pfahler (1965) smatra da agar, regulišući fizičke osobine hranljive podloge, kontroliše stepen uranjanja polenovih zrna u podlogu, a time i količinu kiseonika i rastvorenih materija koju polenova zrna apsorbuju. Luza i Polito (1985) zaključuju da kod polena koji pre klijanja zahteva kontrolisanu hidrataciju sadržaj agara u hranljivoj podlozi može da predstavlja kritičan faktor.

Osnovne uloge saharoze u hranljivim podlogama su: (1) obezbeđivanje energije za klijanje polena i (2) održavanje osmotske ravnoteže između polena i hranljive podloge (Stanley i Linskens, 1974). Različita istraživanja su pokazala da se optimalni sadržaj saharoze u hranljivoj podlozi kreće od 1% do 40% (Visser, 1955; Luza i Polito, 1985).

Borna kiselina predstavlja neophodan sastojak za klijanje polena i rast polenovih cevčica kod većine biljnih vrsta i njeno odsustvo u hranljivoj podlozi često dovodi do pucanja polenovih cevčica (Holdaway-Clarke i Hepler, 2003; Wang *et al.*, 2003). Prema Vasilu (1960), značaj bora za klijanje polena i rast polenove cevčice sastoji se u sledećem: (1) bor podstiče apsorpciju šećera, (2) povećava usvajanje kiseonika i (3) ima značajnu ulogu u sintezi pektina u polennoj cevčici. Obermeyer i Blatt (1996) smatraju

da bor utiče na H<sup>+</sup>-ATPazu, koja inicira klijanje polena i rast polenove cevčice. Nedostatak bora ima za posledicu povećanje sinteze fenola i smanjenje sinteze zasićenih estara u polennoj cevčici. Visoka koncentracija fenola može biti uzrok oštećenja strukture i funkcije ćelijske membrane (Cakmak *et al.*, 1995; Cakmak i Romheld, 1997).

Kalcijum je jedan od najznačajnijih katjona koji su uključeni u metabolizam ćelija (Brewbaker i Kwack, 1964; Jones i Lunt, 1967). Njegova uloga je veoma važna u održavanju integriteta i propustljivosti ćelijske membrane. Prema Holdaway-Clarke *et al.* (2003), optimalne koncentracije bora i kalcijuma u hranljivoj podlozi treba da budu dovoljno visoke da obezbeđuju izgradnju zida polenove cevčice koji je dovoljno čvrst da sprečava njeno pucanje usled turgorovog pritiska, a istovremeno, koncentracije ovih elemenata treba da su dovoljno niske da omoguće elastično izduživanje polenove cevčice u toku perioda intenzivnog rasta.

Iako su definisane hranljive podloge za klijanje polena velikog broja kulturnih biljaka, još ne postoji usaglašen stav o optimalnom sadržaju podloge za klijanje polena oraha. Luza i Polito (1985) su pronašli da je optimalan sadržaj agara u podlozi za naklijavanje polena oraha bio 0,65%, dok Galletta (1983) i Parihar i Bajpai (1992) smatraju da on iznosi 1%. Parihar i Bajpai (1992), kao i Wu *et al.* (2008) su najveću klijavost polena oraha dobili na podlogama sa oko 9%, odnosno 10% saharoze, dok su Vergano *et al.* (1990) naklijavanje polena vršili na podlogama koje su sadržale 20% i 25% saharoze. Rezultati istraživanja optimalnog sadržaja borne kiseline u hranljivim podlogama za naklijavanje polena oraha dosta variraju: od 10 ppm, koliko su dobili Wu *et al.* (2008) do 200 ppm, koliko navode Sağlam i Gülcan (1995). Prema istraživanjima koje su obavili Wu *et al.* (2008) najbolja klijavost polena oraha ustanovljena je na podlozi u kojoj je dodato 40 ppm kalcijum hlorida, dok je u ogledima Cerovića i sar. (1992) optimalan sadržaj kalcijum hlorida u hranljivoj podlozi iznosio 111 ppm.

Uloga polenove cevčice je da klijanjem i rastom izvrši prenošenje mikrogameta od žiga do embrionove kesice (Wang *et al.*, 2003). Pored klijavosti polena, značajan pokazatelj njegove funkcionalne sposobnosti jeste i snaga rasta polenove cevčice. Polen koji se odlikuje malom snagom rasta polenove cevčice može imati veliku klijavost, ali neće biti u stanju da izvrši oplodjenje i omogući stvaranje semena (Towill, 2004). Rast polenove cevčice zavisi od mnogo faktora, među kojima najveći značaj imaju

temperatura, osmotski pritisak hranljive podloge i sadržaj biogenih elemenata u podlozi kao što su kalcijum, cink i bor (Taylor i Hepler, 1997). Brewbaker i Kwack (1964) su zaključili da kalcijum stimuliše izduživanje polenovih cevčica preko 100 vrsta biljaka. U toku ispitivanja klijanja polena oraha u *in vitro* uslovima Schanderl (1964) nije uspeo da ostvari rast polenovih cevčica, već je uočio samo ispupčenja intine kroz pore polenovog zrna, koja su nastala kao posledica hidratacije i povećane enzimske aktivnosti citoplazme vegetativne ćelije polena. Luza i Polito (1985) su zaključili da je rast polenovih cevčica oraha zavisio od koncentracije agara, saharoze, borne kiseline i kalcijum hlorida u hranljivoj podlozi. Prosečne dužine polenovih cevčica, u zavisnosti od sastava podloge iznosile su od 31 µm do 435 µm. Autori su najveću dužinu polenovih cevčica i najveću klijavost polena ostvarili na podlogama identičnog sastava. Vergano *et al.* (1990) navode da je u zavisnosti od genotipa i sastava hranljive podloge dužina polenovih cevčica šest sorti oraha iznosila od 100,6 µm do 269,4 µm. Zielinski (1968), Potts i Marsden-Smedley (1989) i Vergano *et al.* (1990) dokazali su da različiti faktori ne utiču uvek na isti način na klijavost polena i na dužinu polenovih cevčica.

Temperatura je jedan od najvažnijih faktora spoljašnje sredine koji može da utiče na osobine polena u toku progamne faze razvitka (Hedhly *et al.*, 2005). Granične i optimalne temperature za klijanje polena specifične su za svaku vrstu voćaka, a često i za sortu (Luza *et al.*, 1987; Polito *et al.*, 1991; Loupassaki *et al.*, 1997; Rosell *et al.*, 1999; Hedhly *et al.*, 2004).

Polen pojedinih sorti badema, trešnje i kajsije klija već na temperaturi od 5°C (Griggs i Iwakiri, 1975; Egea *et al.*, 1992; Pirlak, 2002), dok polen kruške i manga nije klija ni na 10°C (Mellenthin *et al.*, 1972; Sukhvibul *et al.*, 2000). Luza *et al.* (1987) navode da polen oraha ne klija na temperaturi ispod 14°C. Polen kajsije i trešnje najbolje je klija na 15-20°C (Pirlak, 2002), masline na 20-30°C (Fernandez-Escobar *et al.*, 1983; Cuevas *et al.*, 1994), manga na 15-25°C (Sukhvibul *et al.*, 2000), citrusa na 25°C (Distefano *et al.*, 2012), pekana na 27°C (Marquard, 1992). Najveću klijavost polena Luza *et al.* (1987) ostvarili su kod običnog oraha na 28°C, a kod crnog oraha (*Juglans nigra*) na 32°C. Mert (2009) je najveću klijavost polena oraha dobila na temperaturi 27±1°C, dok je prema Wu *et al.* (2008) optimalna temperatura za klijanje polena sorte oraha 'Yunxin' iznosila 25°C. Luza *et al.* (1987) su utvrdili da je optimalna temperatura za klijanje polena običnog oraha bila niža kod sorti koje se se odlikovale

ranijim prašenjem resa nego kod sorti kod kojih je ono nastupalo kasnije. Polito *et al.* (1991) su otkrili adaptivnu reakciju u klijavosti polena oraha na temperature koje su preovladavale u periodu njegovog formiranja. Optimalne temperature za klijanje polena čiji je razvoj protekao u običnim ambijentalnim uslovima bile su niže nego kod polena koji je uzet sa grana koje su u periodu od početka februara do prašenja resa držane na temperaturi 16-17°C.

Pronalaženje zadovoljavajućeg načina čuvanja polena oraha pruža mogućnost selekcionerima da vrše hibridizaciju između roditelja kod kojih se muški i ženski cvetovi ne otvaraju u isto vreme. Mogućnost čuvanja polena jednu godinu ili duže omogućava korišćenje polena genotipova kasnog resanja za oprašivanje genotipova čiji se ženski cvetovi ranije otvaraju (Griggs *et al.*, 1971). Osim u hibridizaciji, prema ovim autorima, uskladišten polen mogao bi biti korišćen za oprašivanje u komercijalnim zasadima oraha u vreme kada nema dovoljno kvalitetnog svežeg polena ili su uslovi za oprašivanje nepovoljni. Dugoročno čuvanje polena može da predstavlja jedan od načina održavanja germplazme oraha (Stanwood i Bass, 1981).

Optimalni uslovi za čuvanje polena specifični su za svaku biljnu vrstu (Shivana i Johri, 1985). Polen oraha pripada binuklearnom tipu, koji se karakteriše nižim sadržajem vode, većom otpornošću na dehidraciju i boljom sposobnošću čuvanja nego što je kod polena koji sadrži tri jedra prilikom oslobađanja iz antera (Brewbaker, 1967; Towill i Walters, 2000). Nasuprot nekim biljkama, kod kojih smanjenje vlažnosti polena posle oslobađanja iz antera predstavlja neophodnu fazu u njegovom sazrevanju i aktivator je važnih metaboličkih procesa vezanih za rastenje (Lin i Dickinson, 1984), smanjenje sadržaja vlage polena oraha ne doprinosi povećanju njegove klijavosti (Luza *et al.*, 1987).

Sadržaj vode u polenu neposredno posle njegovog oslobađanja iz antera zavisi od biljne vrste, ali kod većine vrsta on iznosi 15-35% (Heslop-Harrison, 1979). Luza *et al.* (1987) navode da je sadržaj vode u polenu oraha u momentu oslobađanja iz antera u toku dve godine istraživanja iznosio, u zavisnosti od sorte, od 4,6% do 12,1%. Posle oslobađanja iz antera polen je u običnim uslovima brzo gubio vlagu. Snižavanje procenta vode u polenu ispod 5% imalo za posledicu brzo smanjenje klijavosti polena, koja je dostizala 0% pri sadržaju vode ispod 3,2%.

Towill (1985) je kao glavne faktore koji utiču na održanje klijavosti polena u toku čuvanja naveo sadržaj vlage u polenu i temperaturu na kojoj se čuva polen. Klijavost svežeg polena, kao i polena čuvanog kraće vreme, uglavnom je uslovljena fiziološkim stanjem membrane vegetativne ćelije, koje zavisi od vlažnosti polena pre i za vreme njegovog čuvanja (Shivanna i Heslop-Harrison, 1981). Dugotrajno čuvanje polena povećava rizik da gubitak klijavosti polena nastupi usled nepovoljnog uticaja drugih faktora, kao što su aktivnost enzima, razgradnja rezervnih materija i dr. (Stanley i Linskens, 1974). Towill i Walters (2000) smatraju da optimalan sadržaj vode u polenu određene biljne vrste treba da bude veći ako se čuvanje polena vrši na nižoj temperaturi.

Pfundt (1910) je prvi ispitivao specifičan uticaj relativne vlažnosti vazduha i temperature na vitalnost polena. Polen preko 140 biljnih vrsta čuvan je na temperaturi od 17°C do 22°C i na četiri različite vlažnosti vazduha: 0%, 30%, 60% i 90%. Kod većine vrsta najbolji rezultati dobijeni su pri relativnoj vlažnosti vazduha 0% i 30%. Smith i Romberg (1932) i Wetzstein i Sparks (1985) otkrili su da polen pekana u običnim uslovima gubi klijavost za svega nekoliko dana posle oslobađanja iz antera. Wood (1934) navodi da je polen oraha posle 3-4 nedelje čuvanja na hladnom mestu zajedno sa delovima resa u staklenim bočicama koje su bile zatvorene pamučnim čepom zadržao sposobnost oplodjenja. Cox (1943) je posle čuvanja polena *Juglans sieboldiana* 230 dana na temperaturi 0°C i relativnoj vlažnosti vazduha 40-60% postigao klijavost 8,5-12% na hranljivoj podlozi sačinjenoj od 15% agara i 25% saharoze, dok polen čuvan na 4°C i 10°C nije klijavao. Cerović i sar. (1992) navode da je polen oraha čuvan u običnim uslovima brzo izgubio klijavost, dok je posle šest meseci čuvanja u desikatoru na temperaturi -20°C klijavost polena, u zavisnosti od sorte, iznosila od 10,4% do 18,5%. Posle 12 meseci čuvanja, klijavost polena svih sorti bila je jednaka nuli. Griggs *et al.* (1971) nisu uočili statistički značajne razlike u broju zametnutih plodova pri korišćenju za oprašivanje svežeg polena i polena koji je skladišten jednu godinu u desikatoru na temperaturi -19°C.

Hanna i Towill (1995) su zaključili da se, iako je prosušen polen nekih vrsta biljaka moguće čuvati na temperaturi između 4°C i -20°C i do jednu godinu bez značajnijeg gubitka klijavosti, dugoročno održanje klijavosti polena najbolje postiže čuvanjem u tečnom azotu na temperaturi -196°C. Najbolji rezultati u čuvanju polena oraha postignuti su primenom tečnog azota, na temperaturi -196°C, pod uslovom da je



vlažnost polena prethodno smanjena ispod 7% (Polito, 1998). Sparks i Yates (2002) navode da klijavost polena pekana nije bila bitno smanjena ni posle 13 godina čuvanja u tečnom azotu.

Prema Politu (1998), metod čuvanja polena u tečnom azotu je iz više razloga nepraktičan i zahteva specifična tehnička sredstva, koja su često nedostupna. Autor smatra da polen oraha može uspešno da se čuva jednu godinu na temperaturi  $-20^{\circ}\text{C}$ , pod uslovom da se u komorama sa polenom u toku čuvanja vrši stroga kontrola relativne vlažnosti vazduha. Kada su polen oraha čuvali na temperaturi  $-20^{\circ}\text{C}$ , Luza i Polito (1985) su utvrdili da je najveću klijavost u *in vitro* testovima imao polen koji je držan iznad zasićenog rastvora magnezijum hlorida, čime je bilo obezbeđeno da se relativna vlažnost vazduha u komorama sa polenom u toku čuvanja održava na 33%.

Prema Shivanna i Heslop-Harison (1981) i Barnabas (1985), u membranama polenovih zrna u toku dehidracije dešavaju se drastične strukturne promene usled kojih dolazi do promene propustljivost plazma membrane vegetativne ćelije. U mnogim slučajevima klijanje polena *in vitro* bilo je uspešno samo posle kontrolisane rehidracije polena u atmosferi zasićenoj vodenom parom pre testiranja klijavosti (Dereuddre i Gazeau, 1986; Hecker *et al.* 1986). Sposobnost polena da klija određena je sposobnošću membrane delimično dehidratisanog polenovog zrna da povрати integritet nakon rehidracije. Luza *et al.* (1987) su utvrdili da kontrolisana rehidracija polena pre zasejavanja na hranljivu podlogu u *in vitro* testovima utiče pozitivno na njegovu klijavost. Brzina rehidracije prosušenog polena značajno utiče na njegovu klijavost (Luza *et al.*, 1987; Hoekstra i Van der Wal, 1988). Hanna i Towill (1995) navode da se bezbedna rehidracija polena može izvesti njegovim držanjem 1-4 časa na sobnoj temperaturi u atmosferi zasićenoj vodenom parom. Da bi se ostvarila maksimalna klijavost polena *Pistacia vera* u *in vitro* uslovima, bilo je neophodno izvršiti rehidraciju polena u atmosferi zasićenoj vodom u trajanju deset časova (Golan-Goldhirsh *et al.*, 1991). Pri ispitivanju klijavosti polena *in vivo*, prema Hecker *et al.* (1986), pre zasejavanja polena na žig nije potrebno izvršiti njegovu rehidraciju. Griggs *et al.* (1971) su iskazali sumnju u relevantnost rezultata koji se dobijaju testiranjem klijavosti polena u laboratorijskim uslovima, pošto su ženski cvetovi oraha oprašeni polenom koji je u laboratorijskim testovima imao klijavost manju od 1% zametnuli 37-48% plodova.

## 4. RADNA HIPOTEZA

Obični orah (*Juglans regia* L.), koji je rodonačelnik najboljih plemenitih sorti i selekcija oraha, usled dugotrajne evolucije u različitim ekološkim uslovima, odlikuje se visokim stepenom genetičke raznolikosti. Orah spada, međutim, u delimično domestikovane voćne vrste. Iz navedenog proizilazi da su realna očekivanja da u slobodnoj populaciji oraha, kao i u okviru izdvojenih sorti i selekcija, egzistiraju genotipovi sa divergentnim karakteristikama muških i ženskih reproduktivnih organa.

U realizaciji ovih istraživanja polazi se od sledećih pretpostavki:

– praćenje procesa morfogeneze muških i ženskih reproduktivnih organa oraha omogućiće precizno definisanje razvojnih faza i dinamike ovog procesa;

– između odgovarajućih razvojnih faza različitih reproduktivnih organa postoji fiziološka i fenološka povezanost;

– pri ispitivanju morfoloških i fizioloških osobina reproduktivnih organa i procesa njihovog formiranja, ispoljiće se razlike koje su posledica genotipskih specifičnosti;

– iz rezultata ispitivanja morfoloških i fizioloških osobina reproduktivnih organa moguće je definisati odnose i zakonitosti koje prevazilaze nivo pojedinačnog slučaja, odnosno genotipa i važe kao model za čitavu vrstu *Juglans regia* L.

– kao rezultat ovih istraživanja dobiće se odgovori na različita aktuelna pitanja, među kojima su: 1) optimalizacija sastava hranljive podloge za ispitivanje klijavosti polena oraha; 2) definisanje mogućnosti i uslova za očuvanje funkcionalne sposobnosti polena primenljivih u širokoj praksi; 3) procena pouzdanosti metoda za ispitivanje funkcionalne sposobnosti polena; 4) procena proizvodne vrednosti ispitivanih sorti u određenim ekološkim uslovima; 5) utvrđivanje stepena korelacije između vidljivih manifestacija karakterističnih faza i mikrofaza razvitka reproduktivnih organa sa procesima mikro i makrosporogeneze, kao i mikro i makrogametogeneze, u cilju izrade praktičnog i lako primenljivog modela za praćenje suptilnih procesa unutar polena i semenog zametka.

## 5. OBJEKAT MATERIJAL I METODE RADA

### 5.1. Objekat

Istraživanja su vršena u toku 2010, 2011, 2012. i 2013. godine, u privatnom zasadu oraha vlasnika Milana Kovinića (Slika 1). Zasad se nalazi u selu Lazac, koje se nalazi između Kraljeva i Čačka, na obroncima planine Jelice, na nadmorskoj visini oko 460 m. Zasad ima zapadnu ekspoziciju. Geografske koordinate zasada su: 43°43'58,85" SGŠ 20°27'3,35"IGD.



**Slika 1.** Zasad oraha u kojem su vršena istraživanja.

Zasad je podignut 1992. godine dvogodišnjim sadnicama koje su nabavljene u Centru za voćarstvo i vinogradarstvo u Čačku. Sadnice su posađene na rastojanju 10 × 10 metara. Posle prekraćivanja na visinu oko 80 cm, voćke su se razvijale slobodno, bez primene specifičnih pomotehničkih zahvata u cilju formiranja određenog uzgojnog oblika. U periodu pune rodnosti sa stabala su po potrebi odstranjivane polomljene i suve

grane. U zasadu su sprovedene osnovne agrotehničke mere: uništavanje korova herbicidima na bazi glifosata i đubrenje mineralnim đubrivima i stajnjakom. Iako se u zasadu ne vrši navodnjavanje, stabla se odlikuju dobrim rastom i rodnošću.

## 5.2. Materijal

U ogledu je bilo uključeno šest genotipova oraha: pet sorti (Šampion, Šejново, Geisenheim 139, Geisenheim 251 i Elit) i jedan spontani sejanac, koji je u ogledima vođen pod oznakom M1. Svaka od sorti u ogledima bila je zastupljena sa pet stabala, dok je genotip M1 predstavljao jedinstveni primerak. Sva stabla su se nalazila u periodu pune rodnosti.

**Šampion** (Slika 2 - a). Sorta je stvorena na Poljoprivrednom fakultetu u Novom Sadu. Stablo je srednje bujno do bujno. Vegetaciju počinje polovinom treće dekade aprila, a završava krajem druge dekade oktobra. Rese počinju da praše krajem aprila ili početkom maja, a ženski cvetovi se otvaraju nekoliko dana kasnije (protandričan je). Plod je vrlo kvalitetan, srednje krupan do krupan (13-15 g), sa randmanom jezgre oko 58%. Plodovi sazrevaju krajem septembra ili početkom oktobra.

**Šejново** (Slika 2 - b). Sorta je nastala u Bugarskoj, odabiranjem iz slobodne populacije oraha. Stablo je srednje bujno. Vegetaciju počinje krajem druge dekade aprila, a završava u trećoj dekadi oktobra. Osim terminalnih pupoljaka i oko 5-10% bočnih pupoljaka na letorastima su rodni. Muški cvetovi se otvaraju polovinom treće dekade aprila, a ženski krajem aprila i početkom maja (protandrična sorta). Plod je srednje krupan (oko 12 g) sa randmanom jezgre oko 53%. Plodovi sazrevaju u poslednjoj nedelji septembra.

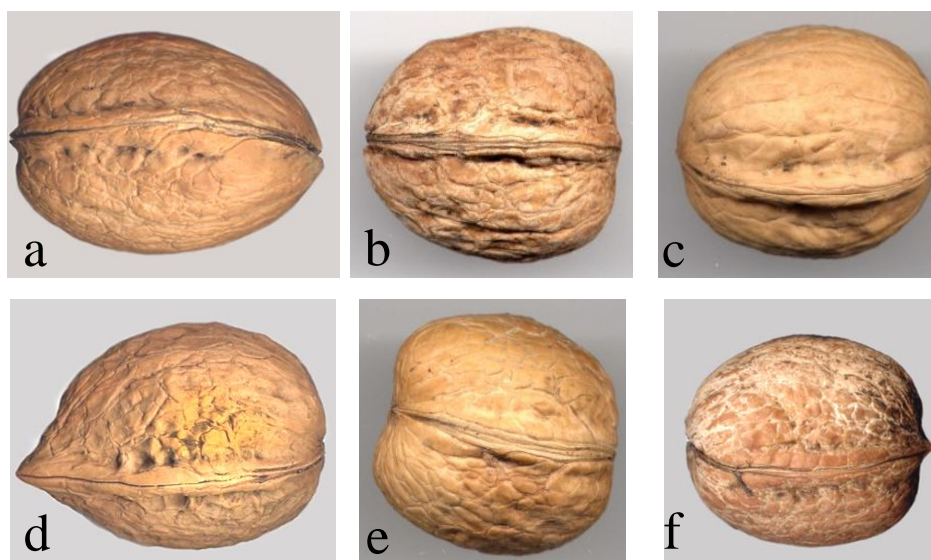
**G139** (Slika 2 - c). Sorta je nemačkog porekla. Stablo je umerene bujnosti. Vegetaciju počinje krajem aprila, a završava u poslednjoj dekadi oktobra. Ženski cvetovi se otvaraju krajem aprila i početkom maja, a muški nekoliko dana kasnije (cveta protoginično). Cvetanje traje dugo. Pored normalnih, može da obrazuje i apomiktične plodove. Plod je srednje krupan (oko 13 g), sa randmanom jezgre oko 48%. Plodovi sazrevaju krajem septembra i početkom oktobra.

**G251** (Slika 2 - d). Sorta je nemačkog porekla. Stablo je srednje bujno. Vegetaciju počinje krajem aprila, a završava krajem oktobra. Prema Koraću (1987), muški cvetovi

se otvaraju polovinom prve dekade maja, a ženski 2-3 dana kasnije, što znači da je sorta protandrična. Prema našim istraživanjima, međutim, u sve tri godine istraživanja sorta G251 bila je protoginična. Plod je srednje krupan (oko 13 g), sa randmanom jezgre oko 45%. Plodovi sazrevaju početkom oktobra.

**Elit** (Slika 2 - e). Sorta je stvorena u Sloveniji. Srednje bujnog je rasta. Vegetaciju počinje u prvoj nedelji maja, a završava je krajem oktobra. Ženski cvetovi se otvaraju u drugoj nedelji maja, a muški istovremeno sa ženskim ili malo kasnije. Plod je prosečne mase oko 10 grama, sa randmanom jezgre oko 48%. Plodovi sazrevaju u prvoj polovini oktobra.

**Sejanac M1** (Slika 2 - f). Pronađen je u blizini navedenog zasada. Odlikuje se dobrom i redovnom rodnošću, krupnoćom plodova oko 10 g i randmanom jezgre oko 48-50%.



**Slika 2.** Plodovi ispitivanih genotipova oraha: a) Šampion, b) Šejново, c) G139, d) G251, e) Elit, f) M1.

### 5.3. Metode istraživanja

#### 5.3.1. Morfološke karakteristike jednogodišnjih grančica

Istraživanja morfoloških karakteristika jednogodišnjih grančica vršena su u vidu četvorofaktorijalnog ogleda sa sledećim faktorima: godina, sorta, dužina grančica i tip

grančica. Istraživanja su sprovedena u periodu mirovanja stabala 2010-2011. godine, 2011-2012. godine i 2012-2013. godine. Iz različitih delova krošnje svakog od šest ispitivanih genotipova uzimano je po 30 monocikličnih jednogodišnjih grančica razvijenih iz vegetativnih pupoljaka (običnih letorasta) i isti broj grančica formiranih iz mešovitih pupoljaka (plodonosnih prirasta) koji su doneli zrele plodove. U istraživanje nisu bili uključeni plodonosni prirasti kod kojih su otpali ženski cvetovi ili nerazvijeni plodovi. Plodonosni prirasti koji su doneli zrele plodove prepoznaju se po grubim i krupnim ožiljcima na svom vrhu od peteljki plodova, dok su ožiljci koji nastaju posle otpadanja ženskih cvetova ili mladih plodića ravni i sitni. U okviru svakog od navedenih tipova grančica formirana su na osnovu njihove dužine po tri podskupa sa po deset grančica: 1) grančice kraće od 6 cm, 2) grančice dužine 8-18 cm i 3) grančice duže od 20 cm. Po skidanju sa stabala, uzorci grančica su stavljani u polietilenske kese sa malo vode i čuvani u frižideru do dalje analize.

Analiza morfoloških karakteristika grančica obuhvatala je ispitivanje sledećih parametara:

- merenje dužine grančice od osnove do vrha terminalnog pupoljka, odnosno od osnove do gornje strane ožiljka od plodova na plodonosnim prirastima (merenje je vršeno lenjirom, sa tačnošću od 1 mm);

- merenje debljine grančice (merenje je vršeno pomičnim kljunastim merilom u blizini osnove grančice, neposredno iznad ožiljaka od ljuspastih listića, sa tačnošću od 0,1 mm);

- izračunavanje indeksa izduženosti grančice (indeks izduženosti grančice,  $I_i$ , jednak je odnosu dužine grančice i debljine grančice);

- određivanje broja nodusa na grančici (u obzir su uzimani nodusi sa jasno uočljivim ožiljcima od pravih listova i pupoljcima u njihovim pazusima);

- određivanje broja resa, vegetativnih i mešovitih pupoljaka na prvom nodusu grančice (kod običnih letorasta prvi nodus ima terminalnu poziciju, a na plodonosnim prirastima prvi nodus je onaj koji se nalazi neposredno ispod ožiljaka od plodova – Slika 3);

- određivanje broja resa, vegetativnih i mešovitih pupoljaka na drugom nodusu grančice (kod običnih letorasta to je prvi subterminalni nodus, a kod plodonosnih prirasta drugi nodus ispod ožiljaka od plodova – slika 3);

- određivanje broja resa, vegetativnih i mešovityh pupoljaka na trećem nodusu grančice (kod običnih letorasta to je drugi subterminalni nodus, a kod plodonosnih prirasta treći nodus ispod ožiljaka od plodova – slika 3);

- određivanje broja resa, vegetativnih i mešovityh pupoljaka na grančici;

- određivanje prosečnog broja resa, vegetativnih i mešovityh pupoljaka po nodusu grančice (ovaj parametar je izračunat tako što je broj navedenih organa na grančici podeljen brojem njenih nodusa);

Određivanje vrste pupoljaka vršeno je otvaranjem i analizom pupoljaka pod binokularnom lupom pri povećanju 10-60 puta. Pupoljci u kojima je utvrđeno prisustvo najmanje jednog začetka ženskog cveta smatrani su mešovityim pupoljcima.



**Slika 3.** Tipovi grančica čije su morfološke osobine ispitivane: levo – običan letorast formiran iz vegetativnog pupoljka; desno – plodonosni prirast poreklom iz mešovityog pupoljka; 1 - a) terminalni pupoljak običnog letorasta; 1 - b) prvi nodus na vrhu plodonosnog prirasta; 2 - a) prvi subterminalni nodus na običnom letorastu; 2 - b) drugi nodus od vrha plodonosnog prirasta; 3 - a) drugi subterminalni nodus; 3 - b) treći nodus od vrha plodonosnog prirasta; 4) ožiljak od ploda; 5) mesto merenja prečnika prirasta.

Posle otvaranja i analize svih pupoljaka koji se nalaze na grančicama, sve jednogodišnje grančice klasifikovane su u četiri kategorije:

- 1) vegetativne grančice (bez generativnih pupoljaka);
- 2) muške grančice (sadrže samo rese ili rese i vegetativne pupoljke);
- 3) ženske rodne grančice (na sebi imaju samo ženske pupoljke ili ženske i vegetativne pupoljke);
- 4) kombinovane rodne grančice (sadrže ženske pupoljke i rese u kombinaciji sa vegetativnim pupoljcima ili bez njih) (Mičić i sar., 1987).

U trogodišnjem periodu ispitivan je udeo navedenih kategorija grančica u uzorku jednogodišnjeg drveta u zavisnosti od genotipa, dužine grančica (grančice kraće od 6 cm, grančice dužine 8-18 cm i grančice duže od 20 cm) i tipa grančice (obični letorasti i plodonosni prirasti). Iako plodonosni prirasti ne predstavljaju prave rodne grančice, već se svrstavaju u staro rodno drvo (Mičić, 1992), radi pojednostavljivanja metodologije izvođenja ogleda, oni su u ovom istraživanju tretirani kao poseban tip rodne grančice.

### **5.3.2. Morfološke karakteristike ženskih reproduktivnih organa**

Morfološke karakteristike mešovityh pupoljaka i ženskih cvetova ispitivane su posmatranjem svežeg materijala pod stereoskopskim mikroskopom STM-9 Pro (Nanjing Microtech Scientific Instrument Co., Jiangsu, China) pri povećanju 10-60 puta. Fotografisanje svežih uzoraka izvršeno je digitalnom kamerom Canon EOS 700D (Canon Inc., Tokyo, Japan), koja je bila postavljena odgovarajućim adapterom na okular stereoskopskog mikroskopa. Deo uzoraka korišćen je za izradu trajnih histoloških preparata, koji su kasnije posmatrani pod svetlosnim mikroskopom BIM 312T (Nanjing Microtech Scientific Instrument Co., Jiangsu, China) pri povećanju 100-1000 puta. Za fotografisanje histoloških preseka korišćena je digitalna kamera Canon EOS 700D.

Za izradu trajnih histoloških preparata korišćena je parafinska metoda. Svež materijal stavljan je na čuvanje u FAA fiksativ (5 ml 40% formalin + 90 ml glacijalna sirćetna kiselina + 5 ml 70% etil alkohol). Izrada trajnih preparata započeta je višestrukim ispiranjem fiksiranog materijala u 50% etil alkoholu, nakon čega je izvršena njegova dehidracija provođenjem kroz seriju alkohola (do 100%) i prosvetljavanje tkiva postepenim prevođenjem iz alkohola u ksilol. Čitav postupak obavljen je u tkivnom procesoru Leica TP 1020 (Leica Microsystems, Nussloch, Germany), u



laboratoriji Poljoprivrednog fakulteta u Zemunu po minutaži koja je predviđena za tvrda tkiva i cvetove, u ukupnom vremenskom trajanju od 11 dana. Inkluzija uzoraka u parafin (tačke topljenja 50-54°C) vršena je u više faza (u ksilol-parafinu 24 časa, u čistom parafinu 24 časa i u parafin-vosku 48 časova), u parafinskom dispanzeru sa toplom pločom Leica EG 1120 i hladnom pločom Leica EG 1130. Ukalupljeni preparati sečeni su mikrotomom Leica SM 2000 R (Leica Microsystems, Nussloch, Germany), na listiće debljine 5 µm. Nakon deparafinisanja odabranih preseka, vršeno je njihovo bojenje alcian plavim i safraninom u centru za bojenje Leica ST 4040, zatim inkluzija u kanada balzam i prekrivanje pokrovnim staklom debljine 0,13-0,17 mm.

Veličina ženskih cvetova (dužina i širina) i semenih zametaka (dužina i širina) određivana je pomoću okulara sa mikrometarskom skalom. Baždarenje okulara izvršeno je pomoću mikrometarskog preparata sa najmanjim podeokom od 10 µm. Dužina ženskih cvetova merena je od osnove cveta do najviše tačke žigova. Širina ženskih cvetova, kao i širina semenih zametaka merena je u medijalnoj ravni (u ravni u kojoj se nalaze karpele).

### **5.3.3. Morfološke karakteristike muških reproduktivnih organa**

Morfološke karakteristike resa i muških cvetova ispitivane su posmatranjem svežeg materijala pod stereoskopskim mikroskopom pri povećanju 10-60 puta. U cilju anatomskih istraživanja muških reproduktivnih organa i praćenja procesa formiranja muškog gametofita, deo uzoraka korišćen je za izradu trajnih histoloških preparata, koji su kasnije posmatrani pod svetlosnim mikroskopom pri povećanju 100-1000 puta. Za izradu trajnih histoloških preparata korišćena je parafinska metoda, čija je procedura detaljno opisana u podpoglavlju 5.3.2. Veličina antera (dužina, širina i debljina) određivana je pomoću okulara sa mikrometarskom skalom. Za izradu histoloških preparata, posmatranje svežeg i prepariranog materijala i izradu snimaka korišćena je ista tehnika koja je navedena u podpoglavlju 5.3.2.

Dimenzije resa (dužina i širina) određivane su na milimetarskom papiru. Rese su uzimane sa nodusa koji su se nalazili u središnjem delu grančice. Grančice su pripadale različitim dužinskim kategorijama.

Broj cvetova po resi određivan je kao prosečna vrednost 30 resa po genotipu. Uzorci resa su uzimani sa grančica različite dužine, sa nodusa koji su se nalazili na

sredini grančice. Pošto se broj prašnika u muškim cvetovima smanjuje od osnove prema vrhu rese, broj prašnika po muškom cvetu određivan je kao prosečna vrednost iz tri cveta na sredini rese, sa deset resa po genotipu.

Određivanje dimenzija hidratisanog polena obavljeno je pomoću svetlosnog mikroskopa. Priprema hidratisanog polena za mikroskopiranje vršena je tako što je na kap vode, postavljenu na predmetno staklo, posut polen finom četkicom, a zatim je kap sa polenom pokrivena pokrovnom ljušpicom i ostavljena dva časa na sobnoj temperaturi. Potom je uzorak sa polenom posmatran pod svetlosnim mikroskopom pri povećanju 400 puta. Merenja su vršena pomoću okulara sa mikrometarskom skalom. Svaki genotip je bio zastupljen sa 30 slučajno odabranih polenovih zrna. Na svakom polenovom zrnju izmerena je dužina i širina.

Morfometrijska ispitivanja nehidratisanog polena obavljena su pomoću skenirajućeg elektronskog mikroskopa marke JEOL JSM-6390LV (JEOL, Tokyo, Japan), pri naponu od 15 kV. Mala količina polena nanošena je pomoću fine četkice na dvostranu transparentnu traku, montiranu na nosač objekta mikroskopa. Za naparavanje uzoraka polena slojem zlata (0,02  $\mu\text{m}$ ) korišćen je „sputter-coater” BAL-TEC SCD 005 (Capovani Brothers Inc., Scotia, NY, USA). Ispitivani su polarnost, simetrija, oblik polenovog zrna (polarni pogled, ekvatorijalni pogled), veličina polenovog zrna (dužina, širina, odnos dužina/širina), aperturacija (broj, oblik, dužina i širina otvora), kao i karakteristike egzine (ornamentacija, veličina ornamenata i međusobna udaljenost ornamenata). Cela polenova zrna fotografisana su i analizirana pri uvećanju 400 puta i 2000 puta, a karakteristike egzine pri povećanju 15000 puta. Kod svakog genotipa analizirano je po 30 polenovih zrna. Ispitivanje veličine i međusobnog rastojanja apertura i ornamenata na egzini kod svakog genotipa vršeno je na tri različita polenova zrna izvođenjem po 10 merenja.

#### **5.3.4. Klijavost polena**

Proučavanje klijavosti polena vršeno je u periodu od 2010-2014. godine i sastojalo se od tri posebna oglada:

- 1) ispitivanje uticaja sorte i sastava hranljive podloge na klijavost polena;
- 2) ispitivanje uticaja temperature na klijavost polena i rast polenovih cevčica;
- 3) ispitivanje uticaja vremena i uslova čuvanja polena na njegovu klijavost.

U proleće 2010. sproveden je preliminarni ogled u kojem je ispitivana klijavost polena sorte Šejnovo na agarnoj podlozi (0,6% agara). Podloge su sadržale različite koncentracije saharoze (10%, 15%, 20% i 25%), borne kiseline (0 ppm, 200 ppm, 400 ppm i 600 ppm) i kalcijum hlorida (0 ppm, 20 ppm i 40 ppm). Naklijavanje polena vršeno je na 48 različitih podloga. Na osnovu rezultata koji su dobijeni u ovom ogledu, u proleće 2011. godine izveden je petofaktorijalni ogled u kojem je za naklijavanje korišćen polen četiri sorte (Šejnovo, Šampion, G251 i Elit). Polen svake od ovih sorti zasejavan je na 54 različite hranljive podloge, koje su dobijene kombinovanjem tri koncentracija agara (0,6%, 0,8% i 1%), tri koncentracije saharoze (10%, 15% i 20%), tri koncentracije borne kiseline (0 ppm, 200 ppm i 400 ppm) i dve koncentracije kalcijum hlorida (0 ppm i 50 ppm). Ogled je ponovljen 2012. godine.

Ispitivanje uticaja sastava hranljive podloge na dužinu polenovih cevčica vršeno je u proleće 2012. godine na polenu sorte G251. Polen sorte G251 zasejavan je na 36 različitih hranljivih podloga, koje su dobijene kombinovanjem dve koncentracije agara (0,6% i 1%), tri koncentracije saharoze (10%, 15% i 20%), tri koncentracije borne kiseline (0 ppm, 200 ppm i 400 ppm) i dve koncentracije kalcijum hlorida (0 ppm i 50 ppm).

Ispitivanje uticaja temperature na klijanje polena *in vitro* obavljeno je u toku 2012. i 2013. godine. U ogledima je korišćen polen sorti Šejnovo, Šampion, G139, G251 i Elit. Naklijavanje polena vršeno je na podlozi koja je sadržala: 0,6% agara, 15% saharoze, 400 ppm borne kiseline i 50 ppm kalcijum hlorida. Inkubacija polena sprovedena je na sledećim temperaturama:  $12\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $17\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$  i  $32\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Ispitivanje uticaja vremena i uslova čuvanja na klijavost polena je obavljeno u vidu petofaktorijalnog ogleda u kojem su faktore činili: godina, sorta, vreme čuvanja polena, temperatura čuvanja polena i stanje hidratisanosti polena pre naklijavanja. Istraživanja su obavljena u toku 2011. i 2012. godine sa polenom sorti Šampion, Šejnovo, G139, G251 i Elit. Polen navedenih sorti čuvan je na tri temperature ( $4^{\circ}\text{C}$ ,  $20^{\circ}\text{C}$  i  $-18^{\circ}\text{C}$ ). Čuvanje polena na  $4^{\circ}\text{C}$  i na  $20^{\circ}\text{C}$  vršeno je u običnim uslovima vlažnosti vazduha, dok je čuvanje polena na  $-18^{\circ}\text{C}$  vršeno u hermetički zatvorenim posudama iznad zasićenog rastvora kalcijum hlorida. U skladu sa rezultatima koje su izneli Luza i Polito (1985), u hermetički zatvorenim posudama sa zasićenim rastvorom kalcijum

hlorida moguće je u dužem vremenskom periodu održavati relativnu vlažnost vazduha oko 33%, koja je, prema mišljenju autora, optimalna za čuvanje polena oraha.

Ispitivanje klijavosti polena čuvanog na 4°C i 20°C vršeno je posle jednog dana, dva dana, četiri dana, 12 dana i 36 dana čuvanja, a klijavost polena čuvanog na -18°C ispitivana je posle 36 i 365 dana čuvanja. Dobijeni rezultati upoređivani su sa klijavošću svežeg polena, koja je ispitivana dva časa po uzimanju uzoraka. Pri naklijavanju polena primenjena su dva tretmana: (1) naklijavanje polena bez prethodne rehidracije; (2) naklijavanje polena uz prethodnu hidrataciju u atmosferi zasićenog vazduha vodenom parom u trajanju tri časa na temperaturi 20°C. Ispitivanje klijavosti obavljeno je na podlozi sledećeg sastava: 0,6% agara, 15% saharoze, 400 ppm borne kiseline i 50 ppm kalcijum hlorida.

Sakupljanje polena vršeno je između devet i jedanaest časova ujutro, u vreme kada rese počinju da praše. Rese kod kojih je započelo pucanje antera uzimane su iz različitih delova krošnje svakog od eksperimentalnih stabala. U laboratorijskim uslovima rese su ostavljene tri do četiri časa na crnom papiru da oslobode polen. Šest časova posle uzimanja resa, vršeno je zasejavanje polena na hranljivim podlogama.

Naklijavanje polena obavljeno je u sterilnim Petri posudama prečnika 35 mm, sa po 3 ml hranljive podloge. U skladu sa preporukama koje je dao Taylor (1972), pre zasejavanja polena, Petri posude sa hranljivim supstratom držane su 24 časa na temperaturi 4°C da agar dovoljno očvrstne. Time se sprečava da polen pri zasejavanju preduboko potone u supstrat, što bi moglo da oteža klijanje ili da dovede do pucanja polenovih cevčica usled prevelike hidratacije. Zasejavanje polena vršeno je finom četkicom, sa ciljem da se postigne što ujednačeniji raspored polenovih zrna po supstratu. Na značaj ravnomernog rasporeda polena na supstratu skrenuli su pažnju Giulivo i Ramina (1974), otkrivši da je klijavost polena bila veća na mestima gde su polenova zrna bila gušće grupisana. Inkubacija polena vršena je u mraku u trajanju 24 časa na temperaturi 20°C. Po završetku inkubacije, Petri posude sa naklijalim polenom prenete su u komoru za zamrzavanje sa temperaturom -18°C radi zaustavljanja rasta polenovih cevčica i čuvanja materijala do momenta dalje obrade. Jedan dan pre planiranog posmatranja pod mikroskopom, Petri posude su iz komore za zamrzavanje prenesene u frižider na 4°C, radi odmrzavanja, kao što su to opisali Hedhly *et al.* (2005).

Određivanje broja klijalih i neklijalih polenovih zrna vršeno je pod svetlosnim mikroskopom pri uvećanju 100 puta. Polen je smatran klijalim ako je dužina polenove cevčice bila veća od prečnika polenovog zrna. Po svakoj Petri posudi posmatrano je 15 slučajno odabranih vidnih polja iz različitih delova Petri posude. Svako vidno polje sadržalo je prosečno 20-50 polenovih zrna i smatrano je jednim ponavljanjem. Po jednoj Petri posudi posmatrano je oko 400-600 polenovih zrna.

Dužina polenovih cevčica merena je pomoću okulara sa mikrometarskom skalom. Po jednoj Petri posudi merenje dužine polenovih cevčica obavljeno je na trideset slučajno odabranih polenovih zrna. Da bi se razlikovale prave polenove cevčice od ispupčenja intine kroz pore na egzini, koja su samo posledica hidratacije i aktivacije enzima u citoplazmi vegetativne ćelije polena i koja ne nastavljaju dalje da rastu (Slika 26-a), merene su samo polenove cevčice koje su bile duže od prečnika polenovog zrna (Slika 26-c, d i e).

#### **5.4. Statistička analiza podataka**

Analiza dobijenih rezultata vršena je primenom Fišerovog modela analize varijanse. U slučajevima pojave statističke značajnosti F pokazatelja kod nekog od faktora, vršeno je testiranje značajnosti razlika između srednjih vrednosti ispitivanih parametara pomoću Takijevog testa za prag značajnosti  $P < 0,05$ . Ispitivani parametri predstavljeni su kao prosečne vrednosti  $\pm$  SE (vrednost standardne greške). Za nivo statističke značajnosti razlika između srednjih vrednosti parametara korišćene su sledeće oznake: NZ – razlike nisu statistički značajne; \* - razlike su statistički značajne (nivo značajnosti  $p < 0,05$ ); \*\* - razlike su statistički visoko značajne (nivo značajnosti  $p < 0,01$ ); \*\*\* - razlike su statistički vrlo visoko značajne (nivo značajnosti  $p < 0,001$ ). Srednje vrednosti u vertikalnim kolonama tabela za različite modalitete određenog faktora koje su obeležene istim malim slovima (a, b, c, itd.) ne razlikuju se značajno za nivo verovatnoće  $P < 0,05$  na osnovu Takijevog testa.

Pored analize varijanse, podaci o klijavosti polena obrađeni su primenom linearne i nelinearne regresije i definisane su najpogodnije funkcije koje prikazuju zavisnost klijavosti polena od temperature. Određivanjem maksimuma ovih funkcija dobijene su procene optimalnih temperatura za klijanje polena za svaku ispitivanu sortu.

Povezanost i priroda veza između pojedinih ispitivanih parametara ispitivana je regresiono-korelacionom analizom, a jačina ovih veza Pirsonovim koeficijentom korelacije ( $r$ ). Karakter korelacije (da li je pozitivna ili negativna) iskazana je predznakom koeficijenta korelacije. Interpretacija vrednosti koeficijenta korelacije izvršena je na sledeći način:  $0,00 < |r| \leq 0,50$  - slaba zavisnost;  $0,50 < |r| \leq 0,75$  – srednja zavisnost;  $0,75 < |r| \leq 0,90$  – jaka zavisnost;  $0,90 < |r| \leq 1,00$  – vrlo jaka zavisnost (Stanković i sar., 2002). Pri testiranju značajnosti koeficijenta korelacije jednom zvezdicom (\*) označen je nivo značajnosti  $P \leq 0,05$ , a sa dve zvezdice (\*\*) nivo značajnosti  $P \leq 0,01$ .

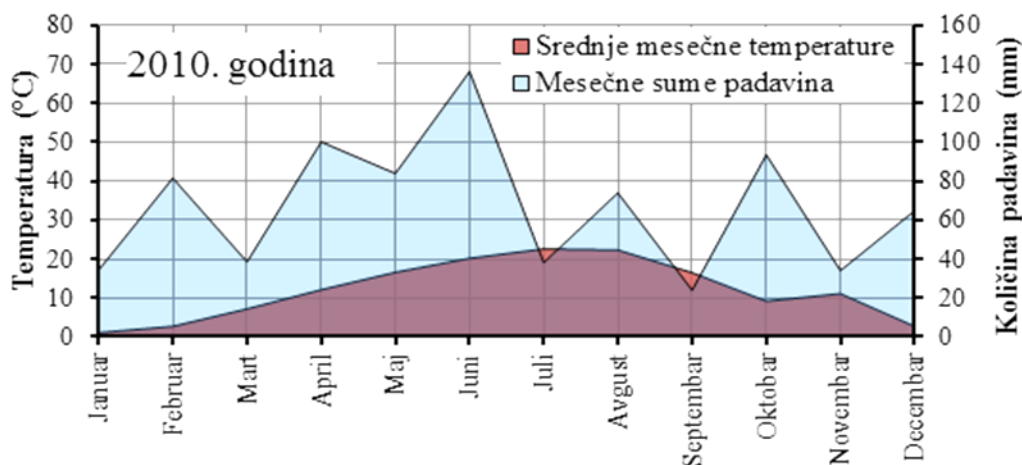
Za statističku obradu podataka korišćen je softverski paket XLSTAT 2014 (Addinsoft, USA).

## 6. AGROEKOLOŠKI USLOVI

### 6.1. Klimatski uslovi

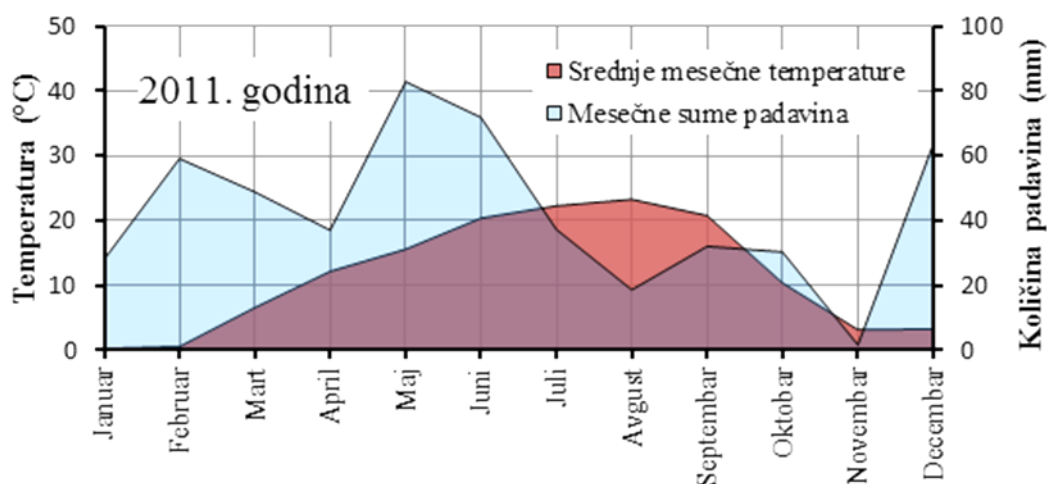
Osnovni klimatski parametri za Kraljevo (srednje mesečne temperature i količine padavina) za vreme trajanja oglada predstavljeni su u obliku klimatograma (Grafikoni 1, 2 i 3). Na Grafikonu 4 prikazan je klimatogram za Kraljevo za period 1981-2010.

Srednje mesečne temperature u toku 2010. godine nisu bitno odstupale od višegodišnjeg proseka za uslove Kraljeva (Grafikoni 1 i 4). Ukupna količina padavina u 2010. godini, kao i u periodu od aprila do oktobra bila je veća za preko 60 mm u odnosu na tridesetogodišnji prosek. Niske temperature u toku zime i proleća nisu izazvale oštećenja drveta i rodni pupoljaka oraha.



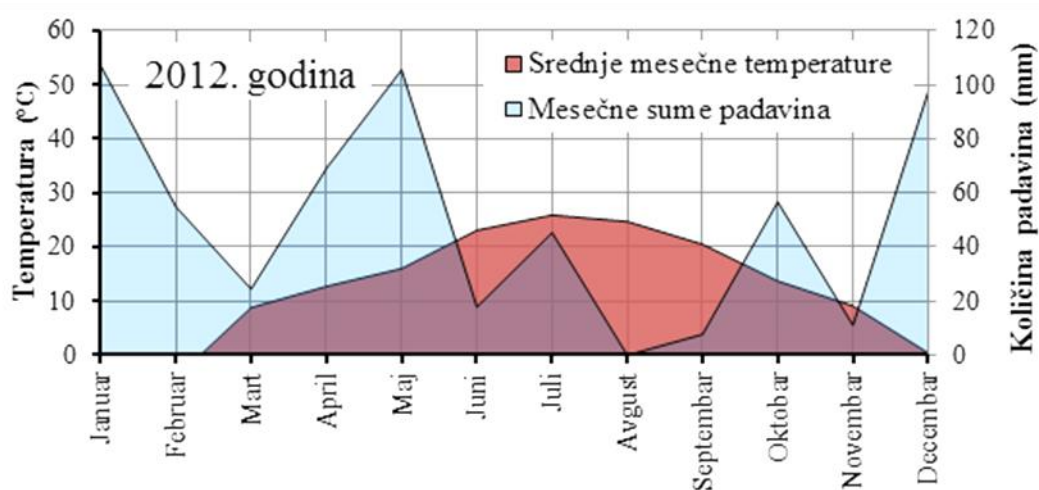
**Grafikon 1.** Klimatogram za Kraljevo za 2010. godinu.

U 2011. godini je srednja godišnja temperatura bila jednaka tridesetogodišnjem proseku, ali je srednja mesečna temperatura za juli bila veća za 2,5°C, a za avgust za 4°C nego što je višegodišnji prosek. Količina padavina u 2011. godini iznosila je 512 mm i bila je niža za 228 mm od prosečne količine padavina u periodu od 1981. do 2010. godine. Deficit vlage bio je naročito izražen u periodu juli-septembar (Grafikon 2). Niske temperature u toku zime nisu izazvale oštećenja drveta i rodni pupoljaka oraha. U toku proleća 2011. godine nije bilo poznih mrazeva.



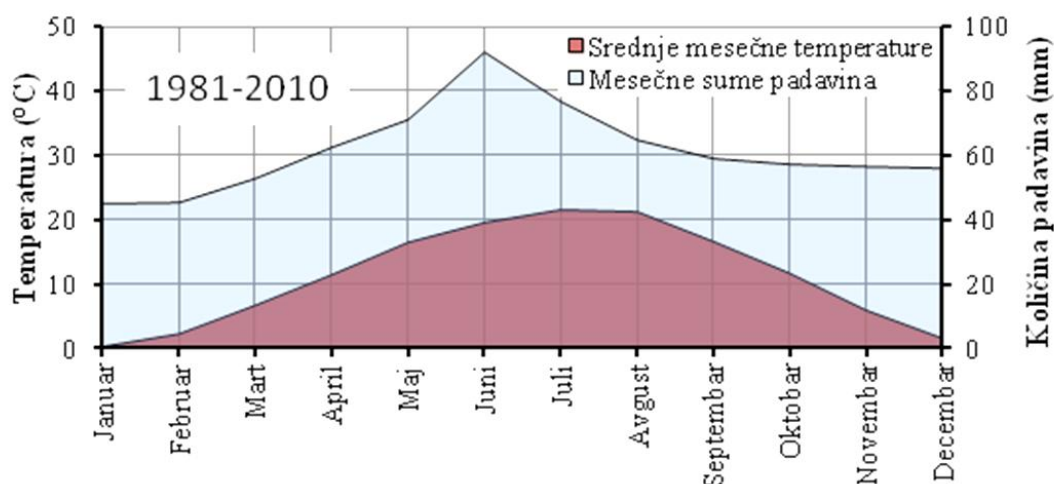
**Grafikon 2.** Klimatogram za Kraljevo za 2011. godinu.

U 2012. godini srednja godišnja temperatura bila je veća za 1°C od tridesetogodišnjeg proseka. Temperature su bile naročito visoke u letnjim mesecima, u kojima je srednja mesečna temperatura bila veća za 3,3-4,1°C od proseka za period 1981-2010. Niske temperature u toku zime nisu izazvale oštećenja drveta i rodnih pupoljaka oraha. Količina padavina u 2012. godini iznosila je 597 mm i bila je za 143 mm manja od prosečnih vrednosti za Kraljevo. Veliki deficit vlage nastupio je u toku leta, pri čemu je suma padavina za avgust i septembar iznosila svega 7,7 mm (Grafikon 3). U toku proleća 2012. godine nije bilo poznih mrazeva.



**Grafikon 3.** Klimatogram za Kraljevo za 2012. godinu.





**Grafikon 4.** Klimatogram za Kraljevo za period 1981-2010.

## 6.2. Zemljišni uslovi

Zasad oraha u kojem su obavljena istraživanja podignut je na kiselo-smeđem zemljištu, čije su osnovne agrohemiske karakteristike prikazane u Tabeli 1.

**Tabela 1.** Agrohemiska svojstva zemljišta u oglednom zasadu (analiza je izvršena 2004. godine u laboratoriji Poljoprivrednog fakulteta u Zemunu).

Dubina (cm)	pH (u nKCl)	Humus (%)	N (%)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	Ca	M	Fe	Mn	Zn	Cu	B
				(mg/100 g)				(mg/kg)				
0-30	4,94	2,52	0,166	25,8	48,5	300	69,7	139	30,8	0,8	3,5	0,76
30-60	5,04	1,39	0,104	6,7	27,6	362	94,2	118	31,9	0,4	1,6	0,32

Zemljište je bilo srednje kisele reakcije, srednjeg sadržaja humusa i ukupnog pristupačnog azota i visokog sadržaja pristupačnog kalijuma. Sadržaj pristupačnog fosfora bio je visok na dubini 0-30 cm, a nizak na dubini 30-60 cm. Sadržaj pristupačnog kalcijuma bio je srednji, a pristupačnog magnezijuma visok. Odnosi i količine ova dva elementa bili su povoljni za ishranu oraha. Sadržaji gvožđa, mangana i bakra bili su visoki, a sadržaji pristupačnog bora i cinka niski.

## 7. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

### 7.1. Morfološke karakteristike rodnih grančica

#### 7.1.1. Debljina grančica

Ukupna prosečna debljina grančica iznosila je 8,41 mm. Na debljinu grančica vrlo visoko značajan uticaj ispoljili su genotip, dužina grančice i tip grančice, a značajan uticaj imala je godina (Tabela 2).

Najveću prosečnu debljinu imale su grančice sorti Elit (9,01 mm) i G139 (8,83 mm), a najmanju grančice sorti Šampion (7,85 mm) i G251 (8,12 mm) (Tabela 2).

Najveću prosečnu debljinu imale su grančice u 2010. godini (8,58 mm), a najmanju u 2012. godini (8,26 mm) i ova razlika bila je statistički značajna. Debljina grančica u 2011. godini (8,39 mm) nije bila statistički značajna u odnosu na ostale dve godine.

Na osnovu Pirsonovog koeficijenta, dužina grančica bila je u srednje jakoj pozitivnoj korelaciji sa debljinom grančica ( $r = 0,65^{**}$ ). Prosečna debljina grančica kraćih od 6 cm iznosila je 6,67 mm, grančica dužine 8-18 cm 8,46 mm, a grančica dužih od 20 cm 10,10 mm. Sve ove razlike bile su statistički značajne.

Prosečna debljina običnih letorasta, odnosno grančica koje su razvijene iz vegetativnih pupoljaka, iznosila je 7,73 mm i bila je za 1,36 mm manja nego kod plodonosnih prirasta, odnosno od grančica koje su nastale iz mešovito pupoljka. Ova razlika je bila vrlo visoko statistički značajna.

Na debljinu grančica značajan uticaj imale su interakcije godina  $\times$  tip grančice i genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice, a vrlo visoko značajan uticaj interakcija genotip  $\times$  dužina grančice.

Debljina letorasta u 2011. godini nije se statistički značajno razlikovala u odnosu na 2010. i 2012. godinu, dok je debljina plodonosnih prirasta u 2011. godini bila statistički značajno manja (za 0,3 mm) u odnosu na 2010. godinu i statistički značajno veća (za 1,33 mm) u odnosu na 2012. godinu (Grafikon 5 - a).

Najmanja debljina grančica kraćih od 6 cm utvrđena je kod sorte Šejnovo, dok su grančice duže od 20 cm iste sorte imale statistički značajno veću debljinu nego kod ostalih sorti (Grafikon 5 - b).

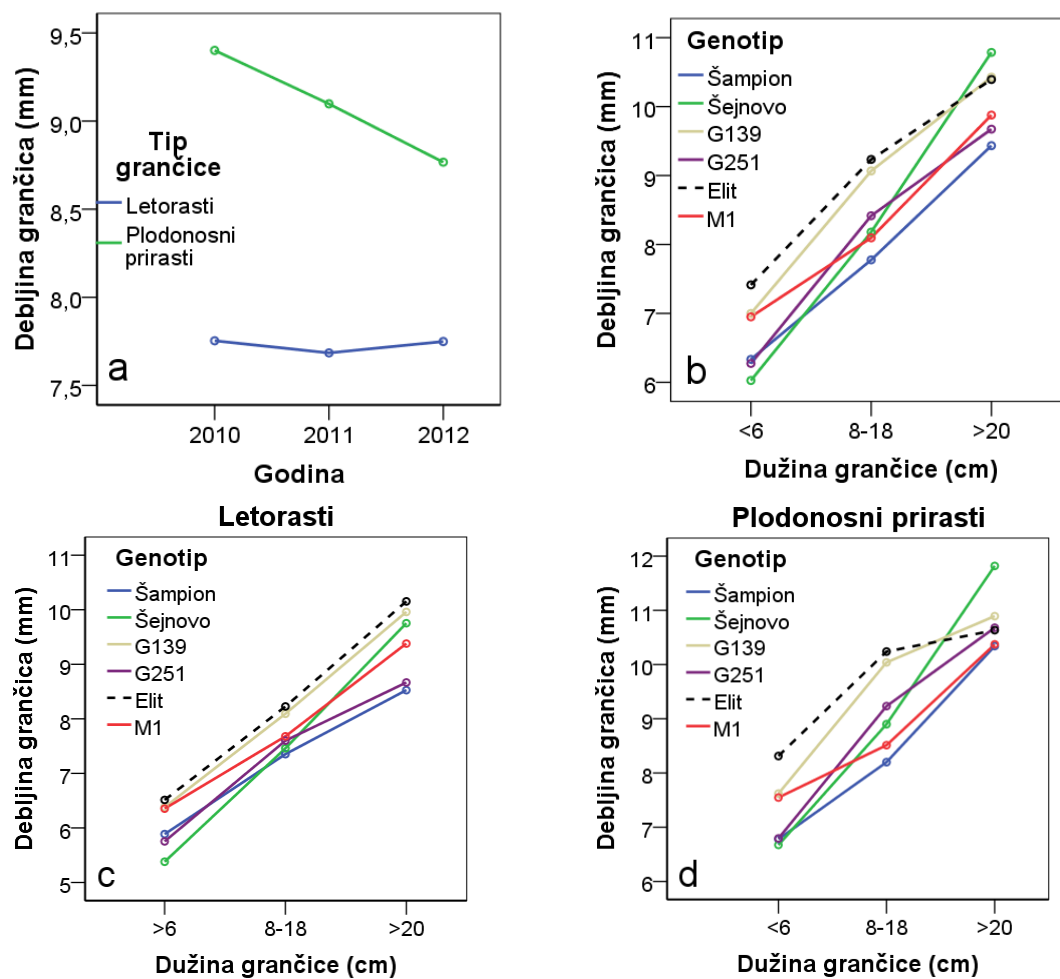
**Tabela 2.** Morfološke karakteristike jednogodišnjih grančica.

Faktor	Nivoi faktora	Debljina grančice (mm)	Broj nodusa na grančici	Indeks izduženosti grančice
Genotip (A)	Šampion	7,85 ± 0,19 a	7,76 ± 0,16 a	14,0 ± 0,07 d
	Šejново	8,33 ± 0,24 b	8,12 ± 0,16 ab	13,0 ± 0,05 abc
	G139	8,83 ± 0,21 c	8,55 ± 0,21 bc	12,5 ± 0,06 ab
	G251	8,12 ± 0,20 ab	8,05 ± 0,16 a	13,5 ± 0,06 cd
	Elit	9,01 ± 0,20 c	9,50 ± 0,19 d	12,2 ± 0,06 a
	M1	8,31 ± 0,19 ab	8,92 ± 0,21 c	13,2 ± 0,06 bcd
Godina (B)	2010	8,58 ± 0,16 a	8,68 ± 0,15 a	12,9 ± 0,04 a
	2011	8,39 ± 0,15 ab	8,51 ± 0,13 ab	13,1 ± 0,04 a
	2012	8,26 ± 0,14 b	8,26 ± 0,13 b	13,3 ± 0,04 a
Dužina grančice (C)	< 6 cm	6,67 ± 0,08 a	6,95 ± 0,09 a	9,2 ± 0,01 a
	8-18 cm	8,46 ± 0,10 b	8,55 ± 0,10 b	9,7 ± 0,01 a
	>20 cm	10,10 ± 0,12 c	9,94 ± 0,11 c	20,3 ± 0,02 b
Tip grančice (D)	Letorasti	7,73 ± 0,10 a	8,15 ± 0,11 a	14,1 ± 0,04 a
	Plodonosni prirasti	9,09 ± 0,12 b	8,81 ± 0,11 b	12,1 ± 0,03 b
Ukupni prosek		8,41 ± 0,08	8,48 ± 0,08	13,1 ± 0,02
ANOVA				
A		***	***	***
B		*	**	NZ
C		***	***	***
D		***	***	***
A × B		NZ	NZ	NZ
A × C		***	***	***
A × D		NZ	*	NZ
B × C		NZ	NZ	NZ
B × D		*	NZ	NZ
C × D		NZ	NZ	**
A × B × C		NZ	NZ	NZ
A × B × D		NZ	NZ	NZ
A × C × D		*	***	NZ
B × C × D		NZ	NZ	NZ
A × B × C × D		NZ	NZ	NZ

Debljina plodonosnih prirasta dužine 8-18 cm kod sorte Elit bila je značajno veća nego kod ostalih sorti, dok je debljina plodonosnih prirasta dužih od 20 cm bila manja nego kod sorti Šejново i G139 (Grafikon 5 - c i d).

Ukupan prosečan indeks izduženosti grančica (odnos dužine i debljine grančica) iznosio je 13,1. Na njegovu vrednost godina nije imala statistički značajan uticaj, dok je uticaj genotipa, dužine grančice i tipa grančice bio vrlo visoko značajan (Tabela 2). Najveći indeks izduženosti grančica bio je kod sorte Šampion (14,0), a namanji kod

sorte Elit (12,2). Njegova vrednost kod ostalih sorti kretala se od 12,5 do 13,5. Kod grančica dužih od 20 cm indeks izduženosti je bio više od dva puta veći nego kod grančica do 6 cm i od 8 cm do 18 cm, dok između poslednje dve kategorije grančica nije postojala statistički značajna razlika. Kod letorasta indeks izduženosti je iznosio 14,1 i bio je za 2,0 veći nego kod plodonosnih mladara. Ova razlika je bila vrlo visoko statistički značajna.



**Grafikon 5.** Uticaj interakcija na debljinu grančica: a) godina × tip grančice; b) dužina grančice × genotip; c) i d) dužina grančice × genotip × tip grančice.

Na indeks izduženosti grančica visoko značajan uticaj imala je interakcija dužina grančice × tip grančice, a vrlo visoko značajan uticaj interakcija genotip × dužina grančice.

### 7.1.2. Broj nodusa na grančicama

Ukupan prosečan broj nodusa na grančicama iznosio je 8,48. Najmanji ustanovljeni broj nodusa na grančicama iznosio je pet, što je bilo utvrđeno u oko 3% slučajeva, a najveći 15, sa frekvencijom oko 0,2%. Na broj nodusa po grančici vrlo visoko značajan uticaj ispoljili su genotip, dužina grančice i tip grančice, a visoko značajan uticaj imala je godina (Tabela 2).

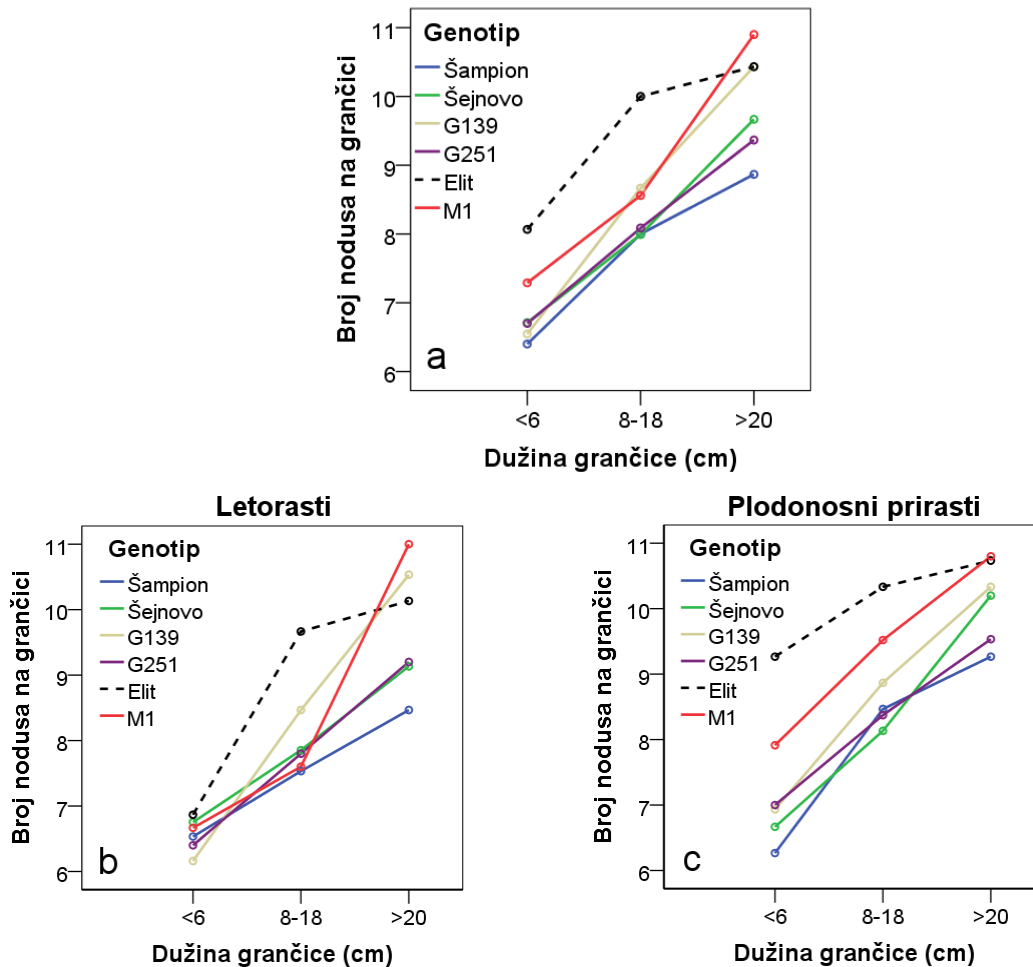
Najveći prosečan broj nodusa po grančici utvrđen je kod sorte Elit (9,50), zatim kod spontanog sejanca M1 (8,92), sorte G139 (8,55), sorte Šejново (8,12), sorte G251 (8,05), a najmanji kod sorte Šampion (7,76).

Najveći prosečan broj nodusa po grančici utvrđen je u 2010. godini (8,68), zatim u 2011. (8,51), a najmanji u 2012. godini (8,26). Razlike između 2010. i 2012. godine bile su statistički značajne.

Broj nodusa po grančici bio je u srednje jakoj pozitivnoj korelaciji sa dužinom grančice ( $r = 0,61$ ), a u jakoj korelaciji sa debljinom grančice ( $r = 0,751^{**}$ ). Prosečan broj nodusa na grančicama kraćim od 6 cm iznosio je 6,95, na grančicama dužine 8-18 cm 8,55, a na grančicama preko 20 cm dužine 9,94. Duže grančice imale su značajno veći broj nodusa nego kraće.

Grančice poreklom iz vegetativnih pupoljaka (letorasti) imale su prosečno 0,6 nodusa manje nego grančice koje su se razvile iz mešovitoog pupoljka (plodonosni prirasti). Ova razlika je bila statistički vrlo visoko značajna. Od ukupnog broja analiziranih plodonosnih prirasta 0,74% je imalo manje od 6 nodusa, dok je udeo plodonosnih prirasta sa šest nodusa iznosio 11,11%. Među običnim letorastima udeo onih sa manje od šest nodusa bio je 5,20%, a udeo letorasta sa šest nodusa 9,63%.

Na broj nodusa po grančici ispoljile su vrlo visoko značajan uticaj interakcije genotip  $\times$  dužina grančice i genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice. Broj nodusa na grančicama dužine do 6 cm i od 8 cm do 18 cm kod sorte Elit bio je visoko značajno veći nego kod sejanca M1, dok je broj nodusa na grančicama dužim od 20 cm kod sorte Elit bio značajno manji u odnosu na Genotip M1 (Grafikon 6 - a). Na letorastima spontanog sejanca M1 dužine 8-18 cm utvrđen je značajno manji broj nodusa nego kod sorte G139, ali je na plodonosnim prirastima iste dužine broj nodusa kod M1 bio značajno veći nego kod G139 (Grafikon 6 - b i c).



**Grafikon 6.** Uticaj interakcija na broj nodusa na grančicama: a) korelacija genotip  $\times$  dužina grančice; b) i c) korelacija genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice.

### 7.1.3. Broj i raspored mešoviti pupoljaka na grančicama

Ukupan prosečan broj mešoviti pupoljaka na prvom nodusu grančice (posmatrano od vrha grančice) iznosio je 0,88. Na broj mešoviti pupoljaka na prvom nodusu vrlo visoko značajan uticaj imali su genotip, dužina grančice i tip grančice. Između godina u pogledu ovog parametra nije bilo značajnih razlika, a nisu ispoljeni ni statistički značajni interakcijski efekti (Tabela 3). Najmanji broj mešoviti pupoljaka na prvom nodusu imala je sorta Šampion (0,73), a najveći spontani sejanac M1 (0,93). Relativno veliki prosečan broj mešoviti pupoljaka na prvom nodusu nađen je i kod sorti Šejново (0,85), G139 (0,88) i Elit (0,89). Razlike u pogledu ovog parametra između sorte Šampion i sejanca M1 bile su vrlo visoko značajne, između sorte Šejново i sorte Elit visoko značajne, a između sorte Šejново i sorte G139 značajne. Na kratkim

grančicama (ispod 6 cm) broj mešovityh pupoljaka na prvom nodusu bio je vrlo visoko značajno manji nego kod grančica dužine preko 8 cm. U pogledu ovog parametra nije bilo značajnih razlika između grančica dužine 8-18 cm i preko 20 cm. Letorasti su na prvom nodusu imali prosečno za 0,1 mešoviti pupoljak više nego plodonosni prirasti. Ova razlika bila je vrlo visoko značajna.

Ukupan prosečan broj mešovityh pupoljaka na drugom nodusu grančice iznosio je 0,35. Na broj mešovityh pupoljaka na drugom nodusu vrlo visoko značajan uticaj imali su godina, genotip, dužina grančice i tip grančice (Tabela 3). Najmanji prosečan broj mešovityh pupoljaka na drugom nodusu grančica imala je sorta Šampion (0,15), a najveći sorta G139 (0,47). U 2012. godini na drugom nodusu diferencirano je prosečno za 0,11 mešovityh pupoljaka manje nego u 2011. godini i za 0,17 mešovityh pupoljaka manje nego u 2010. Razlike između 2012. i 2010. godine bile su statistički vrlo visoko značajne, a između 2012. i 2011. godine visoko značajne. Povećanje dužine grančice uticalo je pozitivno na broj mešovityh pupoljaka na drugom nodusu. Na grančicama dužim od 20 cm bilo je prosečno 0,47 mešovityh pupoljaka na drugom nodusu, dok je kod grančica kraćih od 6 cm njihov broj iznosio 0,18. Na letorastima je na drugom nodusu bilo prosečno 0,08 mešovityh pupoljaka, dok je na plodonosnim prirastima ta vrednost bila skoro šest puta veća. Na broj mešovityh pupoljaka na drugom nodusu statistički značajan uticaj imala je interakcija genotip  $\times$  dužina grančice, genotip  $\times$  godina  $\times$  tip grančice i genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice, a vrlo visoko značajan uticaj interakcije genotip  $\times$  tip grančice i dužina grančice  $\times$  tip grančice.

Ukupan prosečan broj mešovityh pupoljaka na trećem nodusu grančice iznosio je 0,21. Na ovaj parametar vrlo visoko značajan uticaj imali su genotip, dužina grančice i tip grančice (Tabela 3). Najmanji prosečan broj mešovityh pupoljaka na trećem nodusu imale su grančice sorte Šampion (0,09), nešto veći je bio kod sorti Šejnovo i G251 (0,14), zatim kod sorti Elit (0,23) i G139 (0,31), a najveći je bio kod spontanog sejanca M1 (0,37). U tri godine ispitivanja prosečan broj mešovityh pupoljaka na trećem nodusu na grančicama kretao se od 0,20 (2011. i 2012. godine) do 0,24 (2010. godine). Na dužim grančicama utvrđen je veći prosečan broj mešovityh pupoljaka na trećem nodusu, tako da je na grančicama preko 20 cm vrednost ovog parametra iznosila 0,34 i bila je oko 1,5 puta veća nego na grančicama dužine 8-18 cm i četiri puta veća nego na grančicama kraćim od 6 cm. Prosečan broj mešovityh pupoljaka na trećem nodusu kod

letorasta iznosio je 0,06 i bio je šest puta manji nego kod plodonosnih prirasta. Na broj mešoviti pupoljaka na trećem nodusu statistički značajan uticaj imala je interakcija genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice, visoko značajan uticaj imala je interakcija genotip  $\times$  tip grančice, a vrlo visoko značajan uticaj interakcija dužina grančice  $\times$  tip grančice.

**Tabela 3.** Broj i raspored mešoviti pupoljaka na grančicama.

Faktor	Nivoi faktora	Broj mešoviti pupoljaka				
		Na 1. nodusu	Na 2. nodusu	Na 3. nodusu	Na grančici	Prosečno po nodusu
Genotip (A)	Šampion	0,73 $\pm$ 0,05 a	0,15 $\pm$ 0,04 a	0,09 $\pm$ 0,03 a	0,95 $\pm$ 0,09 a	0,12 $\pm$ 0,01 a
	Šejново	0,85 $\pm$ 0,04 ab	0,31 $\pm$ 0,05 b	0,14 $\pm$ 0,04 a	1,38 $\pm$ 0,10 bc	0,16 $\pm$ 0,01 ab
	G139	0,88 $\pm$ 0,03 b	0,47 $\pm$ 0,05 c	0,31 $\pm$ 0,05 b	2,03 $\pm$ 0,16 d	0,23 $\pm$ 0,02 d
	G251	0,81 $\pm$ 0,04 ab	0,26 $\pm$ 0,05 ab	0,14 $\pm$ 0,04 a	1,29 $\pm$ 0,12 ab	0,15 $\pm$ 0,01 ab
	Elit	0,89 $\pm$ 0,03 b	0,45 $\pm$ 0,05 c	0,23 $\pm$ 0,04 ab	1,73 $\pm$ 0,12 cd	0,18 $\pm$ 0,01 bc
	M1	0,93 $\pm$ 0,02 b	0,44 $\pm$ 0,05 c	0,37 $\pm$ 0,05 b	1,96 $\pm$ 0,13 d	0,22 $\pm$ 0,01 cd
Godina (B)	2010	0,88 $\pm$ 0,02 a	0,42 $\pm$ 0,04 b	0,24 $\pm$ 0,03 a	1,71 $\pm$ 0,09 a	0,19 $\pm$ 0,01 a
	2011	0,84 $\pm$ 0,03 a	0,36 $\pm$ 0,04 b	0,20 $\pm$ 0,03 a	1,54 $\pm$ 0,09 ab	0,17 $\pm$ 0,01 a
	2012	0,83 $\pm$ 0,03 a	0,25 $\pm$ 0,03 a	0,20 $\pm$ 0,03 a	1,42 $\pm$ 0,09 b	0,17 $\pm$ 0,01 a
Dužina grančice (C)	< 6 cm	0,67 $\pm$ 0,03 a	0,18 $\pm$ 0,03 a	0,08 $\pm$ 0,02 a	0,93 $\pm$ 0,07 a	0,13 $\pm$ 0,01 a
	8-18 cm	0,93 $\pm$ 0,02 b	0,38 $\pm$ 0,04 b	0,22 $\pm$ 0,03 b	1,67 $\pm$ 0,08 b	0,19 $\pm$ 0,01 b
	>20 cm	0,95 $\pm$ 0,01 b	0,47 $\pm$ 0,04 c	0,34 $\pm$ 0,03 c	2,06 $\pm$ 0,10c	0,20 $\pm$ 0,01 b
Tip grančice (D)	Letorasti	0,90 $\pm$ 0,02 a	0,08 $\pm$ 0,02 a	0,06 $\pm$ 0,01 a	1,12 $\pm$ 0,04 a	0,14 $\pm$ 0,00 a
	Plodonosni prirasti	0,80 $\pm$ 0,02 b	0,61 $\pm$ 0,03 b	0,37 $\pm$ 0,03 b	1,99 $\pm$ 0,09 b	0,22 $\pm$ 0,01 b
Ukupni prosek		0,85 $\pm$ 0,01	0,35 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,02	1,56 $\pm$ 0,05	0,18 $\pm$ 0,01
ANOVA						
A		***	***	***	***	***
B		NZ	***	NZ	*	NZ
C		***	***	***	***	***
D		***	***	***	***	***
A $\times$ B		NZ	NZ	NZ	*	*
A $\times$ C		NZ	*	NZ	*	NZ
A $\times$ D		NZ	***	**	***	***
B $\times$ C		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
B $\times$ D		NZ	NZ	NZ	*	NZ
C $\times$ D		NZ	***	***	***	**
A $\times$ B $\times$ C		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
A $\times$ B $\times$ D		NZ	*	NZ	NZ	NZ
A $\times$ C $\times$ D		NZ	NZ	*	*	**
B $\times$ C $\times$ D		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
A $\times$ B $\times$ C $\times$ D		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ

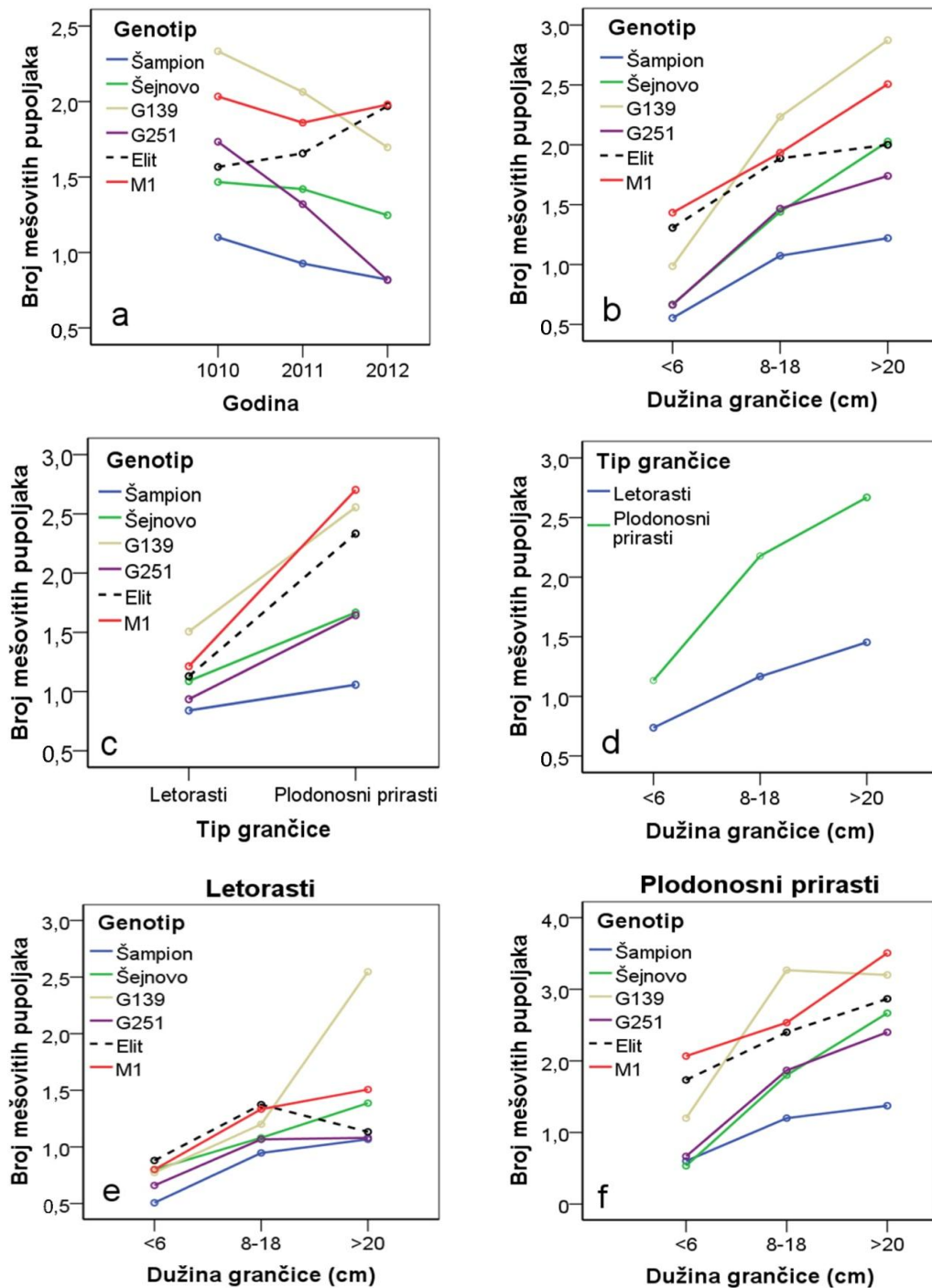
Ukupan prosečan broj mešoviti pupoljaka na grančicama bio je 1,56. Na ovaj parametar značajan uticaj imala je godina, visoko značajan uticaj ispoljio je tip grančice,



a vrlo visoko značajan bio je uticaj genotipa i dužine grančice (Tabela 3). Broj mešovityh pupoljaka po grančici bio je u srednje jakoj pozitivnoj korelaciji sa brojem nodusa na grančici ( $r = 0,538^{**}$ ) i debljinom grančice ( $r = 0,596^{**}$ ). Najmanji broj mešovityh pupoljaka utvrđen je na grančicama sorte Šampion (0,95), a najveći na grančicama genotipova G139 (2,03) i M1 (1,96). U 2010. godini utvrđen je najveći prosečan broj mešovityh pupoljaka po grančici (1,71), a u 2012. godini najmanji (1,42). Ova razlika je bila statistički visoko značajna, dok razlika između vrednosti ovog parametra u 2011. godini (1,54) nije bila statistički značajna u odnosu na ostale dve godine. Duže grančice su imale veći broj mešovityh pupoljaka. Na grančicama do 6 cm nalazilo se prosečno 0,93 mešovita pupoljka, na grančicama dužine 8-18 cm bilo je 1,67 pupoljaka, dok su grančice duže od 20 cm sadržale prosečno 2,06 mešovityh pupoljaka. Plodonosni prirasti su imali na sebi prosečno 1,99 mešovityh pupoljaka, a letorasti 1,12. Navedena razlika bila je statistički visoko značajna.

Na broj mešovityh pupoljaka po grančici značajan uticaj imale su interakcije genotip  $\times$  godina, godina  $\times$  tip grančice, genotip  $\times$  dužina grančice i genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice, a vrlo visoko značajan uticaj ispoljile su interakcije genotip  $\times$  tip grančice i dužina grančice  $\times$  tip grančice. Za razliku od sorti Šampion, Šejnovo, G139 i G251, kod kojih je prosečan broj mešovityh pupoljaka po grančici bio najmanji u 2012., a najveći u 2010. godini, kod sorte Elit bilo je suprotno, dok je kod spontanog sejanca M1 u 2011. godini broj mešovityh pupoljaka po grančici bio najmanji (Grafikon 7 - a). Kod sorte Šejnovo i spontanog sejanca M1 broj mešovityh pupoljaka po grančici povećavao se gotovo linearno sa povećanjem dužine grančice, dok je kod ostalih genotipova razlika u broju mešovityh pupoljaka između grančica dužine 8-18 cm i grančica preko 20 cm bila veća nego između grančica kraćih od 6 cm i grančica dužine 8-18 cm (Grafikon 7 - b). Broj mešovityh pupoljaka po letorastu bio je najmanji kod sorti Šampion (0,84) i G251 (0,94), a najveći kod sorte G139 (1,51).

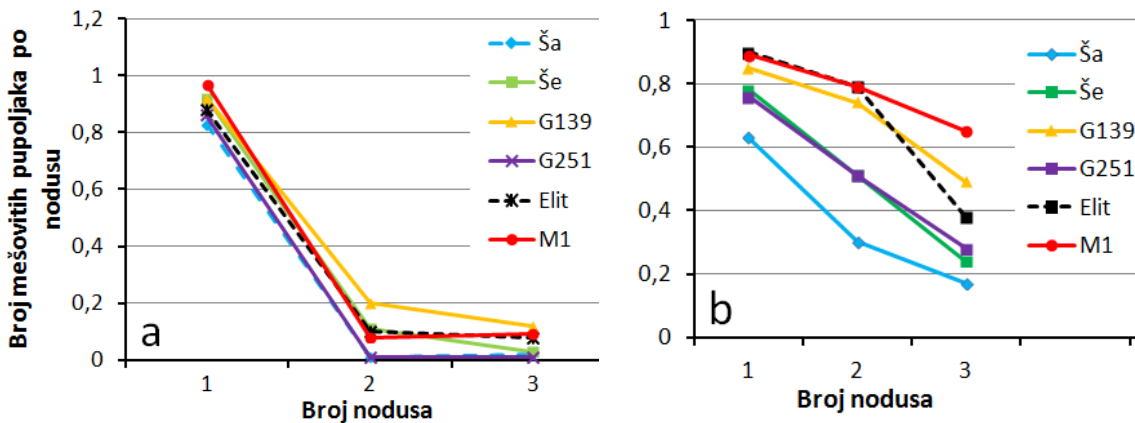
Najmanji broj mešovityh pupoljaka na plodonosnim prirastima takođe je imala sorta Šampion (1,06), dok su najveće vrednosti ovog parametra ustanovljene kod spontanog sejanca M1 (2,70), a zatim kod sorte G139 (2,56) Grafikon 7 - c). Kod sorte G139 broj mešovityh pupoljaka na letorastima bio je veći nego kod sejanca M1, dok je na plodonosnim prirastima bilo suprotno (Grafikon 7 - d).



**Grafikon 7.** Uticaj interakcija na broj mešovityh pupoljaka po grančici: a) genotip × godina; b) dužina grančice × genotip; c) tip grančice × genotip; d) dužina grančice × tip grančice; e) i f) dužina grančice × genotip × tip grančice.

Kod većine genotipova sa povećanjem dužine grančica povećavao se i prosečan broj mešovityh pupoljaka po grančici, ali je to povećanje bilo izraženije kod plodonosnih

prirasta nego kod letorasta. Kod sorte Elit na letorastima koji su bili duži od 20 cm prosečan broj mešovityh pupoljaka bio je manji nego na grančicama dužine 8-18 cm. Na plodonosnim prirastima sorte G139 veći broj mešovityh pupoljaka utvrđen je na prirastima dužine 8-18 cm nego na prirastima čija je dužina bila veća od 20 cm, dok je kod letorasta prosečan broj mešovityh pupoljaka bio najveći na onima koji su bili duži od 20 cm. Po tome je ova sorta daleko nadmašila ostale sorte (Grafikon 7 - e i f).



**Grafikon 8.** Zastupljenost mešovityh pupoljaka na tri vršna nodusa na letorastima (a) i na plodonosnim prirastima (b).

Na vršnom nodusu grančice najveće su šanse za diferenciranje mešovityh pupoljaka, a prema osnovi grančice one su sve manje. To pravilo je bilo evidentno kod svih genotipova, ali su razlike između njih bile statistički značajne. Na svakom od tri vršna nodusa najmanji prosečan broj mešovityh pupoljaka utvrđen je kod sorte Šampion, a najveći kod sorte G139 i spontanog sejanca M1. Maksimalne razlike između genotipova u broju mešovityh pupoljaka na tri vršna nodusa, prikazane u odnosu na vrednosti ovog parametra kod sorte Šampion (koje su za svaki od nodusa bile najniže) iznosile su: na prvom nodusu 27,4%, na drugom 313,1%, a na trećem (411,1%). Najveći broj mešovityh pupoljaka na drugom i trećem nodusu letorasta utvrđen je kod sorte G139, a na plodonosnim prirastima kod spontanog sejanca M1 (Grafikon 8). Razlika u prosečnom broju pupoljaka bila je najveća između prvog i drugog nodusa (prosečno 0,5 pupoljaka), dok je između drugog i trećeg nodusa ona iznosila 0,14 pupoljaka. Najveća razlika u prosečnom broju mešovityh pupoljaka na prvom i drugom nodusu utvrđena je kod sorte Šampion (0,58), a najmanja kod sorte G139 (0,41).

Ukupan prosečan broj mešovityh pupoljaka po nodusu grančice iznosio je 0,18. Na ovaj parametar vrlo visoko značajan uticaj imali su genotip, dužina grančice i tip grančice (Tabela 2). Najveći broj mešovityh pupoljaka po nodusu pronađen je kod sorte G139 (0,23) i spontanog sejanca M1 (0,22), zatim kod sorti Elit (0,18), Šejново (0,16) i G251 (0,15), a najmanji je bio kod sorte Šampion (0,12). U 2010. godini utvrđen je veći broj mešovityh pupoljaka po nodusu nego u 2011. i 2012. godini, ali ove razlike nisu bile statistički značajne. Grančice kraće od 6 cm imale su prosečno 0,13 mešovityh pupoljaka po nodusu. Ova vrednost je bila statistički vrlo visoko značajno manja od vrednosti dobijene kod grančica dužine 8-18 cm (0,19) i grančica dužih od 20 cm (0,20). Razlika između dve kategorije dužih grančica nije bila statistički značajna. Na letorastima je bilo manje mešovityh pupoljaka po nodusu (0,14) nego na plodonosnim prirastima (0,22).

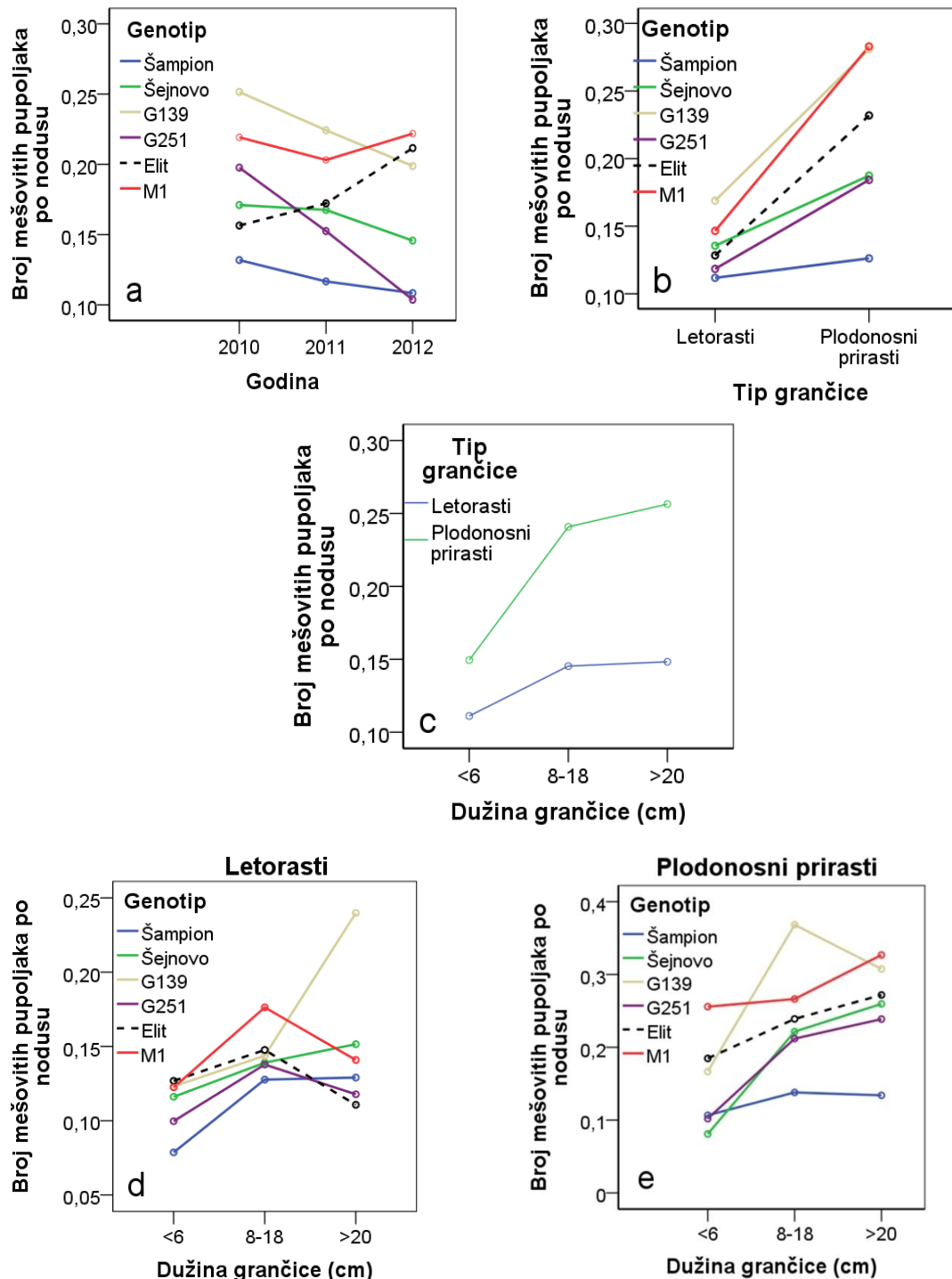
Broj mešovityh pupoljaka po nodusu bio je u srednje jakoj pozitivnoj korelaciji sa brojem mešovityh pupoljaka na vršna tri nodusa, a u vrlo jakoj korelaciji sa brojem mešovityh pupoljaka po grančici. Manju, ali visoko značajnu pozitivnu korelaciju sa brojem mešovityh pupoljaka po nodusu imali su broj nodusa na grančici ( $r = 0,317^{**}$ ) i debljina grančice ( $r = 0,460^{**}$ ).

Na broj mešovityh pupoljaka po nodusu značajan uticaj ispoljile su interakcije genotip  $\times$  godina, visoko značajan uticaj imala je interakcija dužina grančice  $\times$  tip grančice, a vrlo visoko značajan uticaj utvrđen je od strane interakcije genotip  $\times$  tip grančice.

U 2010. godini na grančicama sorte G251 pronađeno je prosečno 0,20 mešovityh pupoljaka po nodusu, što je bilo značajno više nego kod sorti Šejново, Elit i Šampion (Grafikon 9 - a). U 2011. godini, a naročito u 2012. godini broj mešovityh pupoljaka po nodusu kod sorte G251 bio je visoko značajno manji u odnosu na sorte Šampion i Elit i približno jednake vrednosti kao kod sorte Šampion. Spontani sejanac M1 u 2010. i 2011. godini imao je značajno manji broj mešovityh pupoljaka po nodusu u odnosu na sortu G139, ali je u 2012. godini bilo suprotno.

Kod sorte Šampion razlika u broju mešovityh pupoljaka po nodusu između letorasta i plodonosnih prirasta iznosila je svega 0,02 i nije bila statistički značajna, dok su kod većine ostalih genotipova, razlike bile znatno više izražene. Kod sorte Elit je bilo za 0,10 mešovityh pupoljaka po nodusu više na plodonosnim prirastima nego na

letorastima, kod G139 ta razlika je iznosila 0,11, a kod spontanog sejanca M1 je bila 0,13 (Grafikon 9 - b).



**Grafikon 9.** Uticaj interakcija na broj mešovityh pupoljaka po nodusu grančice: a) genotip × godina; b) tip grančice × genotip; c) dužina grančice × tip grančice; d) i e) dužina grančice × genotip × tip grančice.

Razlika u broju mešovityh pupoljaka po nodusu između kategorije najkraćih grančica i srednje dugih grančica (8-18 cm) bila je značajno veća kod plodonosnih prirasta nego kod letorasta (Grafikon 9- c).

Na letorastima sorte G139 dužine 8-18 cm broj mešovityh pupoljaka po nodusu iznosio je 0,14 i bio je statistički značajno manji nego na letorastima dužim od 20 cm, kod kojih je ovaj parametar imao vrednost 0,24 (Grafikon 9 - d). Plodonosni prirasti iste sorte dužine 8-18 cm, međutim, imali su 0,38 mešovityh pupoljaka po nodusu, što je bilo za 0,06 pupoljaka po nodusu više nego na plodonosnim prirastima dužim od 20 cm (Grafikon 9 - e). Kod spontanog sejanca M1 na letorastima dužine 8-18 cm utvrđen je najveći broj mešovityh pupoljaka po nodusu, dok je na plodonosnim prirastima dužim od 20 cm vrednost ovog parametra bila veća nego kod ostale dve dužinske kategorije grančica (Grafikon 9 - d i e).

Ako se od prosečnog broja mešovityh pupoljaka po grančici oduzme njihov prosečan broj na prvom nodusu, dobija se prosečan broj mešovityh pupoljaka na lateralnom položaju po grančici. Deljenjem prosečnog broja mešovityh pupoljaka u lateralnom položaju sa prosečnim brojem nodusa po grančici i množenjem ovog količnika sa 100 dobija se udeo lateralnih mešovityh pupoljaka (%). Na plodonosnim prirastima sorte Šampion on je bio najmanji – 5,4%, G251 – 10,6%, Šejново – 19,6%, Elit – 14,2%, spontanog sejanca M1 – 19,2% i G139 – 19,6%. Identičan poredak sorti dobija se kada se ovaj parametar izračuna za obične letoraste: najmanji udeo lateralnih mešovityh pupoljaka imali su letorasti sorte Šampion - 1,6%, zatim G251 – 5,6%, Šejново – 5,8%, Elit – 9,6%, M1 – 11,8%, dok je najveći udeo lateralnih mešovityh pupoljaka utvrđen kod sorte G139 – 13,2%.

#### **7.1.4. Broj i raspored resa na grančicama**

Pojava resa na prvom nodusu plodonosnih prirasta i letorasta dužih od 8 cm bila je vrlo retka. Kod većine genotipova nije pronađena nijedna grančica sa resom na prvom nodusu ni u jednoj od godina. Izuzetak je samo sorta Šejново, kod koje su u 2012. godini na oko 70% letorasta kraćih od 6 cm pronađene rese na prvom nodusu. U takvim slučajevima rese su bile najčešće u serijalnom rasporedu zajedno sa mešovitym pupoljkom, a dosta ređe sa vegetativnim pupoljkom. Samo u jednom slučaju resa je bila

usamljena na terminalnoj poziciji. Prisustvo resa na prvom nodusu bilo je ispoljeno kao izolovana pojava, tako da u ovom radu ono nije detaljnije razmatrano.

**Tabela 4.** Broj i raspored resa na grančicama.

Faktor	Nivoi faktora	Broj resa			
		Na 2. nodusu	Na 3. nodusu	Po grančici	Prosečno po nodusu
Genotip (A)	Šampion	0,56 ± 0,07 a	0,91 ± 0,06 a	5,61 ± 0,21 c	0,73 ± 0,02 a
	Šejnovi	0,46 ± 0,06 a	0,74 ± 0,05 ab	4,99 ± 0,16 c	0,62 ± 0,02 b
	G139	0,25 ± 0,04 bc	0,35 ± 0,05 c	2,35 ± 0,22 a	0,29 ± 0,03 d
	G251	0,39 ± 0,05 ab	0,64 ± 0,06 b	4,93 ± 0,15 c	0,62 ± 0,02 b
	Elit	0,19 ± 0,04 c	0,41 ± 0,05 c	2,96 ± 0,23 ab	0,34 ± 0,03 cd
	M1	0,26 ± 0,05 bc	0,36 ± 0,05 c	3,44 ± 0,18 b	0,40 ± 0,02 c
Godina (B)	2010	0,36 ± 0,04 a	0,55 ± 0,04 a	3,72 ± 0,16 a	0,46 ± 0,02 a
	2011	0,35 ± 0,04 a	0,55 ± 0,04 a	4,09 ± 0,17 ab	0,50 ± 0,02 ab
	2012	0,35 ± 0,04 a	0,60 ± 0,04 a	4,33 ± 0,17 b	0,54 ± 0,02 b
Dužina grančice (C)	< 6 cm	0,56 ± 0,04 a	0,76 ± 0,03 a	3,63 ± 0,12 a	0,53 ± 0,02 a
	8-18 cm	0,35 ± 0,04 b	0,58 ± 0,04 b	4,32 ± 0,16 b	0,53 ± 0,02 a
	>20 cm	0,15 ± 0,03 c	0,36 ± 0,04 c	4,20 ± 0,20 b	0,45 ± 0,02 b
Tip grančice (D)	Letorasti	0,54 ± 0,03 a	0,70 ± 0,03 a	4,51 ± 0,13 a	0,58 ± 0,02 a
	Plodnosni prirasti	0,17 ± 0,02 b	0,43 ± 0,03 b	3,58 ± 0,13 b	0,42 ± 0,02 b
Ukupni prosek		0,35 ± 0,02	0,57 ± 0,02	4,05 ± 0,09	0,50 ± 0,01
ANOVA					
A		***	***	***	***
B		NZ	NZ	**	**
C		***	***	***	***
D		***	***	***	***
A × B		NZ	NZ	NZ	NZ
A × C		**	NZ	***	***
A × D		**	NZ	***	**
B × C		NZ	NZ	NZ	NZ
B × D		**	**	NZ	NZ
C × D		***	***	NZ	NZ
A × B × C		NZ	NZ	NZ	NZ
A × B × D		NZ	NZ	NZ	NZ
A × C × D		*	**	**	**
B × C × D		NZ	NZ	NZ	NZ
A × B × C × D		NZ	NZ	NZ	NZ

Ukupan prosečan broj resa na drugom nodusu grančice iznosio je 0,35. Na broj resa diferenciranih na drugom nodusu grančica vrlo visoko značajan uticaj ispoljili su genotip, dužina grančice i tip grančice (Tabela 4).

Grančice sorte Šampion imale su najveći broj resa na drugom nodusu (0,56), a kod sorte Elit ovaj parametar bio je najmanji (0,19). Razlike između godina nisu bile statistički značajne. Grančice kraće od 6 cm imale su najveći broj resa na drugom nodusu (0,56), na grančicama dužine 8-18 cm njihov broj je bio 0,35, dok je na grančicama dužim od 20 cm prosečan broj resa na drugom nodusu iznosio svega 0,15. Na drugom nodusu letorasta bilo je prosečno 0,54 rese, dok je na plodonosnim mladima vrednost ovog parametra iznosila 0,17. Na broj resa na drugom nodusu grančice značajan uticaj ispoljila je interakcija genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice, visoko značajan uticaj imale su interakcije godina  $\times$  tip grančice, genotip  $\times$  dužina grančice i genotip  $\times$  tip grančice, a vrlo visoko značajan uticaj imala je interakcija dužina grančice  $\times$  tip grančice.

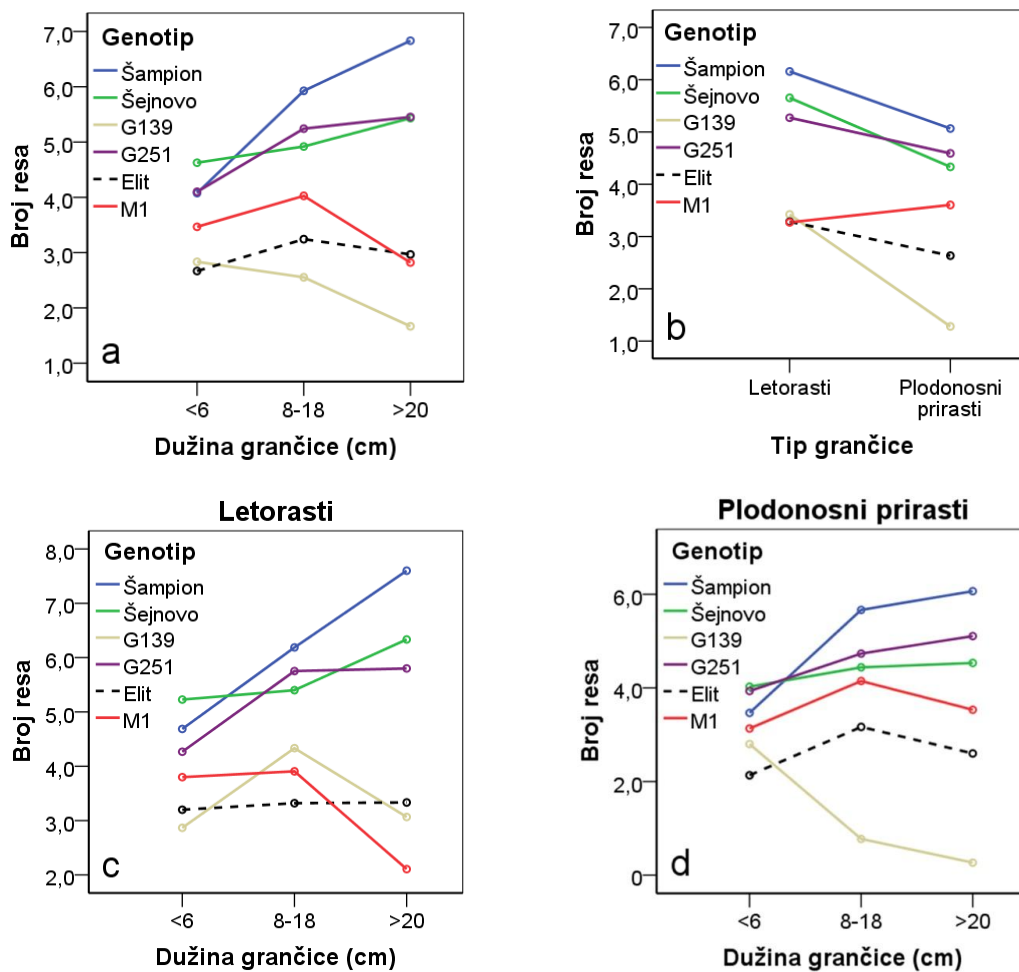
Ukupan prosečan broj resa na trećem nodusu grančice iznosio je 0,57. Na broj resa diferenciranih na trećem nodusu grančica vrlo visoko značajan uticaj ispoljili su genotip, dužina grančice i tip grančice (Tabela 4). Najveći prosečan broj resa na trećem nodusu utvrđen je kod sorte Šampion (0,91), a najmanji je bio kod sorte G139 (0,35) i sejanca M1 (0,36). Razlike između godina nisu bile statistički značajne. Najveći broj resa na trećem nodusu utvrđen je na grančicama kraćim od 6 cm (0,76), na grančicama dužine 8-18 cm on je bio 0,58, a na grančicama dužim od 20 cm 0,36. Na letorastima je prosečan broj resa na trećem nodusu bio 0,70, dok je na plodonosnim prirastima on iznosio 0,43. Na vrednost ovog parametra visoko značajan uticaj imale su interakcije godina  $\times$  tip grančice i genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice, a vrlo visoko značajan uticaj ispoljen je od strane interakcije dužina grančice  $\times$  tip grančice.

Ukupan prosečan broj resa po grančici iznosio je 4,05. Na ovaj parametar visoko značajan uticaj imala je godina, a vrlo visoko značajan uticaj ispoljili su genotip, dužina grančice i tip grančice (Tabela 4). Najveći prosečan broj resa po grančici imala je sorta Šampion (5,61), zatim Šejново (4,99), G251 (4,93), M1 (3,44), Elit (2,96) i G139 (2,35). U 2012. godini bilo je prosečno 4,33 rese po grančici, u 2011. 4,09, a u 2010. godini 3,72 rese. Razlike između vrednosti ovog parametra koja je dobijena u 2011. godini i vrednosti dobijenih u 2010. i 2012. godini nisu bile značajne, dok je razlika u broju resa po grančici između 2010. i 2012. godine bila visoko značajna. Na grančicama dužine do 6 cm bilo je visoko značajno manje resa (prosečno 3,63) nego na grančicama dužine 8-18 cm (4,32) i dužim od 20 cm (4,20). Razlike u broju resa po grančici između



poslednje dve dužinske kategorije grančica nisu bile značajne. Letorasti su imali na sebi prosečno 4,51 resu, dok je na plodonosnim prirastima ustanovljeno prosečno 3,58 resu. Ove razlike su bile vrlo visoko značajne.

Broj resu po grančici bio je u slaboj, ali statistički visoko značajnoj negativnoj korelaciji sa debljinom grančice ( $r = -0,189^{**}$ ) i sa brojem mešovityh pupoljaka po grančici ( $r = -0,187^{**}$ ), a u srednje jakoj negativnoj korelaciji sa brojem vegetativnih pupoljaka po grančici ( $r = -0,567^{**}$ ) i sa brojem ženskih cvetova na prvom nodusu ( $r = -0,614^{**}$ ).



**Grafikon 10.** Uticaj interakcija na broj resu po grančici: a) dužina grančice  $\times$  genotip; b) tip grančice  $\times$  genotip; c) i d) dužina grančice  $\times$  genotip  $\times$  tip grančice.

Na broj resu po grančici visoko značajan uticaj ispoljila je interakcija genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice, dok su interakcije genotip  $\times$  dužina grančice i genotip  $\times$  tip grančice imale vrlo visoko značajan uticaj.

Kod sorte G139 najveći broj resa utvrđen je na grančicama kraćim od 6 cm, a najmanji na najdužim grančicama, dok je kod sorti G251, Šampion i Šejново bilo suprotno. Sorta Elit i spontani sejanac M1 najveći broj resa imali su na grančicama dužine 8-18 cm (Grafikon 10 - a).

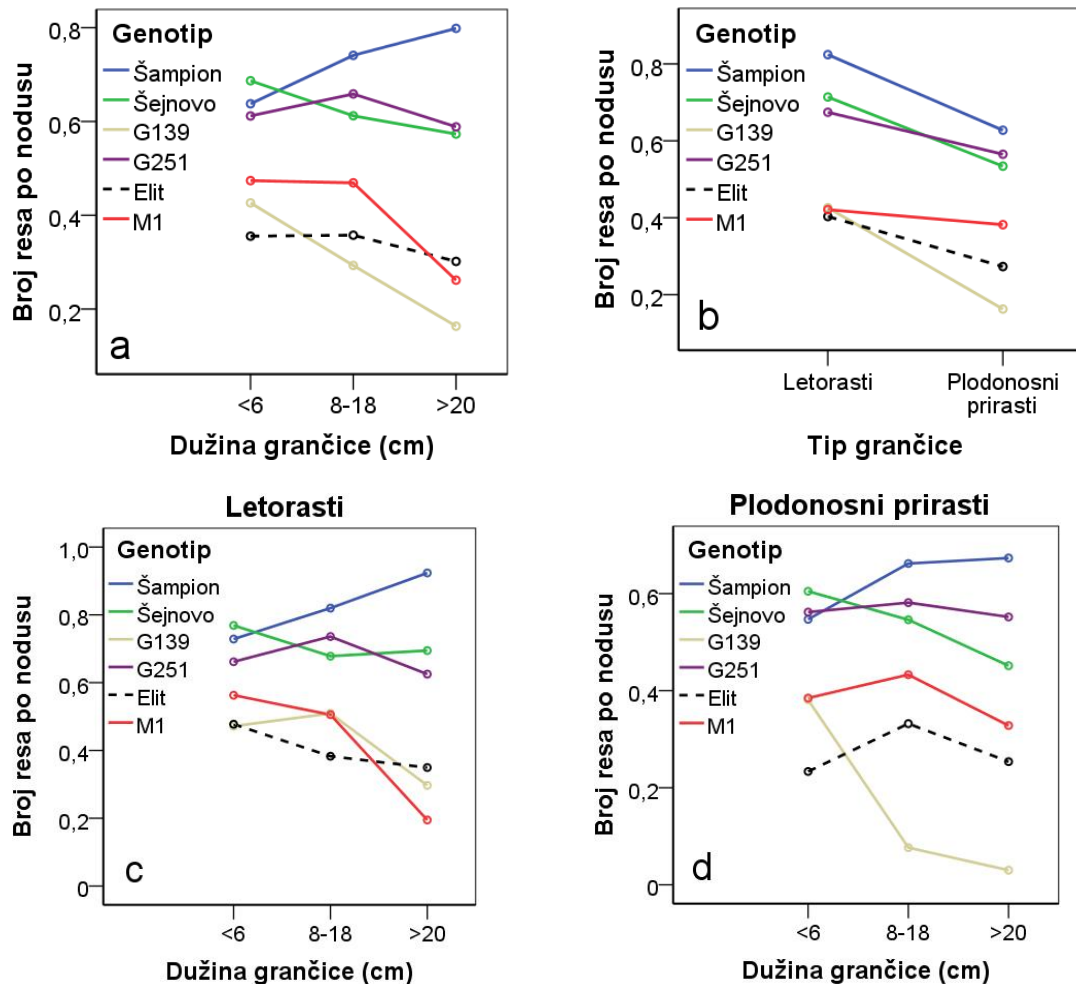
Kod većine ispitivanih genotipova na letorastima je bilo više resa nego na plodonosnim prirastima. Za razliku od ostalih genotipova, kod sejanca M1 veći broj resa pronađen je na plodonosnim mladima (Grafikon 10 - b).

Grančice najkraće kategorije kod sorti Šampion, Šejново i G251, bez obzira da li predstavljaju obične letoraste ili plodonosne priraste, nosile su najmanji broj resa, dok je najveći broj resa pronađen na grančicama koje su bile duže od 20 cm. Kod sorte Elit razlike u broju resa između letorasta različite dužine nisu bile statistički značajne, dok je među plodonosnim prirastima statistički značajno najveći broj resa pronađen na grančicama dužine 8-18 cm (Grafikon 10 - c i d). Letorasti sorte G139 dužine 8-18 cm imali su najveći broj resa, dok se sa povećanjem dužine plodonosnih prirasta broj resa smanjivao.

Ukupan prosečan broj resa po nodusu iznosio je 0,50. Na ovaj parametar visoko značajan uticaj imala je godina, a vrlo visoko značajan uticaj ispoljili su genotip, dužina grančice i tip grančice (Tabela 4). Najveći broj resa po nodusu imale su sorta Šampion (0,73), zatim Šejново i G251, kod kojih je vrednost ovog parametra iznosila 0,62. Ove tri sorte su se visoko ili vrlo visoko značajno razlikovale od ostalih sorti. Najmanji broj resa po nodusu imala je sorta G139 (0,29). U 2010. godini utvrđen je najmanji broj resa po nodusu (0,46), dok je u 2012. on bio najveći (0,54). U 2011. godini vrednost ovog parametra iznosila je 0,50, ali se ona nije statistički značajno razlikovala od vrednosti koje su ustanovljene u ostale dve godine. Na grančicama dužine do 6 cm i od 8 do 18 cm utvrđen je jednak broj resa po nodusu (0,53), dok je kod kategorije najdužih grančica on bio visoko značajno manji (0,45). Na letorastima je pronađeno 0,58 resa po nodusu, što je bilo vrlo visoko iznad vrednosti ovog parametra kod plodonosnih mladara, kod kojih je on iznosio 0,42.

Broj resa po nodusu bio je u slaboj negativnoj korelaciji sa brojem nodusa na grančici ( $r = -0,402^{**}$ ) i debljinom grančice ( $r = -0,434^{**}$ ), a u srednje jakoj negativnoj korelaciji sa brojem vegetativnih pupoljaka po grančici ( $r = -0,684^{**}$ ) i brojem ženskih cvetova po grančici ( $r = -0,710^{**}$ ).

Na broj resa po nodusu visoko značajan uticaj ispoljile su interakcije genotip  $\times$  tip grančice i genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice, a vrlo visoko značajan uticaj interakcija genotip  $\times$  dužina grančice.



**Grafikon 11.** Uticaj interakcija na broj resa po nodusu: a) dužina grančice  $\times$  genotip; b) tip grančice  $\times$  genotip; c) i d) dužina grančice  $\times$  genotip  $\times$  tip grančice.

Kod genotipova Šejново, G139 i M1 sa povećanjem dužine grančice smanjivao se broj resa po nodusu, dok je kod sorte Šampion na dužim grančicama broj resa po nodusu bio manji nego na kraćim grančicama. Kod sorte Elit vrednost ovog parametra bila je jednaka na grančicama kraćim od 6 cm i grančicama dužine 8-18 cm (0,35), a na najdužim grančicama (preko 20 cm) iznosila je 0,30, odnosno bila je najmanja. Kod sorte G251 najveći broj resa po nodusu utvrđen je na grančicama dužine 8-18 cm (Grafikon 11 - a).

Na letorastima genotipova G139, Elit i M1 utvrđen je sličan broj resa po nodusu - od 0,40 (Elit) do 0,43 (G139). Na plodonosnim prirastima spontanog sejanca M1 broj resa po nodusu nije se značajno razlikovao u odnosu na broj koji je dobijen na letorastima (0,38), dok je kod sorti G139 i Elit on bio značajno manji (0,16, odnosno 0,27) (Grafikon 11 - b).

Kod sorte G139 najveći broj resa po nodusu ustanovljen je na letorastima srednje dužine (0,51), dok je vrednost ovog parametra na najkraćim plodonosnim prirastima iznosila 0,38 i bila je višestruko veća nego na plodonosnim prirastima veće dužine. Najkraći letorasti sorte Elit imali su veći broj resa po nodusu od dužih letorasta, ali je broj resa po nodusu na plodonosnim prirastima dužine 8-18 cm bio značajno veći nego kod ostale dve dužinske kategorije ovog tipa grančica (Grafikon 11 - c i d).

#### **7.1.5. Broj i raspored vegetativnih pupoljaka na grančicama**

Ukupan prosečan broj vegetativnih pupoljaka na prvom nodusu grančice iznosio je 0,18. Na vrednost ovog parametra visoko značajan uticaj ispoljio je tip grančice, a vrlo visoko značajan uticaj imala je dužina grančice (Tabela 5). Prosečan broj vegetativnih pupoljaka diferenciranih na prvom nodusu grančica kraćih od 6 cm iznosio je 0,35 i po tome su se one vrlo visoko značajno razlikovale od grančica koje su imale veću dužinu. Grančice duge 8-18 cm imale su prosečno 0,13 vegetativnih pupoljaka na prvom nodusu, a grančice duže od 20 cm 0,04 vegetativna pupoljka. Razlike između ove dve kategorije grančica nisu bile statistički značajne. Na plodonosnim prirastima na prvom nodusu diferencirano je prosečno 0,24 vegetativna pupoljka, a na letorastima 0,11. Na broj vegetativnih pupoljaka na prvom nodusu grančica nisu imale uticaj interakcije između faktora.

Ukupan prosečan broj vegetativnih pupoljaka na drugom nodusu grančica iznosio je 0,44. Na vrednost ovog parametra značajan uticaj imala je godina, a vrlo visoko značajan uticaj ispoljili su genotip i dužina grančica (Tabela 5). Najveći prosečan broj vegetativnih pupoljaka na drugom nodusu grančica utvrđen je kod sorte Elit (0,68), a najmanji kod sorti Šejново (0,28) i G139 (0,29). Najveći prosečan broj vegetativnih pupoljaka na drugom nodusu grančica bio je u 2012. godini, a najmanji u 2010. godini. Navedene razlike bile su statistički značajne, što nije bio slučaj sa razlikama u vrednostima ovog parametra izmerenim u 2011. i u ostale dve godine.

**Tabela 5.** Broj i raspored vegetativnih pupoljaka na grančicama.

Faktor	Nivoi faktora	Broj vegetativnih pupoljaka			
		Na 1. nodusu	Na 2. nodusu	Po grančici	Prosečno po nodusu
Genotip (A)	Šampion	0,27 ± 0,05 a	0,56 ± 0,07 ab	1,96 ± 0,23 a	0,23 ± 0,02 b
	Šejново	0,16 ± 0,04 a	0,28 ± 0,06 c	1,11 ± 0,13 a	0,13 ± 0,01 a
	G139	0,11 ± 0,03 a	0,29 ± 0,05 c	3,82 ± 0,32 b	0,43 ± 0,03 c
	G251	0,19 ± 0,04 a	0,42 ± 0,05 bc	1,49 ± 0,14 a	0,18 ± 0,02 ab
	Elit	0,21 ± 0,08 a	0,68 ± 0,08 a	7,34 ± 0,51 c	0,72 ± 0,04 d
	M1	0,11 ± 0,03 a	0,38 ± 0,06 bc	3,59 ± 0,38 b	0,38 ± 0,04 c
Godina (B)	2010	0,14 ± 0,04 a	0,36 ± 0,04 a	3,41 ± 0,31 a	0,34 ± 0,03 a
	2011	0,20 ± 0,04 a	0,44 ± 0,05 ab	3,19 ± 0,27 a	0,34 ± 0,03 a
	2012	0,19 ± 0,03 a	0,51 ± 0,04 b	3,07 ± 0,24 a	0,34 ± 0,02 a
Dužina grančice (C)	< 6 cm	0,35 ± 0,04 a	0,32 ± 0,03 a	1,82 ± 0,17 a	0,24 ± 0,02 a
	8-18 cm	0,13 ± 0,04 b	0,38 ± 0,04 a	2,80 ± 0,26 b	0,30 ± 0,02 a
	>20 cm	0,04 ± 0,02 b	0,61 ± 0,05 b	5,04 ± 0,31 c	0,49 ± 0,3 b
Tip grančice (D)	Letorasti	0,11 ± 0,02 a	0,47 ± 0,04 a	2,54 ± 0,22 a	0,27 ± 0,02 a
	Plodonosni prirasti	0,24 ± 0,03 b	0,41 ± 0,03 b	3,90 ± 0,22 b	0,41 ± 0,02 b
Ukupni prosek		0,18 ± 0,02	0,44 ± 0,03	3,22 ± 0,16	0,34 ± 0,01
ANOVA					
A		NZ	***	***	***
B		NZ	*	NZ	NZ
C		***	***	***	***
D		**	NZ	***	***
A × B		NZ	NZ	**	**
A × C		NZ	***	***	**
A × D		NZ	***	***	***
B × C		NZ	NZ	NZ	NZ
B × D		NZ	NZ	NZ	NZ
C × D		NZ	***	NZ	*
A × B × C		NZ	NZ	NZ	NZ
A × B × D		NZ	NZ	NZ	NZ
A × C × D		NZ	*	***	***
B × C × D		NZ	NZ	NZ	NZ
A × B × C × D		NZ	NZ	NZ	NZ

Grančice dužine preko 20 cm imale su vrlo visoko značajno veći prosečan broj vegetativnih pupoljaka na drugom nodusu (0,61) nego grančice dužine 8-18 cm (0,38) i grančice kraće od 6 cm (0,32). Razlika u vrednostima ovog parametra između grančica dužine 8-18 cm i grančica kraćih od 6 cm nije bila statistički značajna. Razlike u prosečnom broju vegetativnih pupoljaka na drugom nodusu letorasta i plodonosnih prirasta nisu bile statistički značajne. Na ovaj parametar statistički značajan uticaj imala

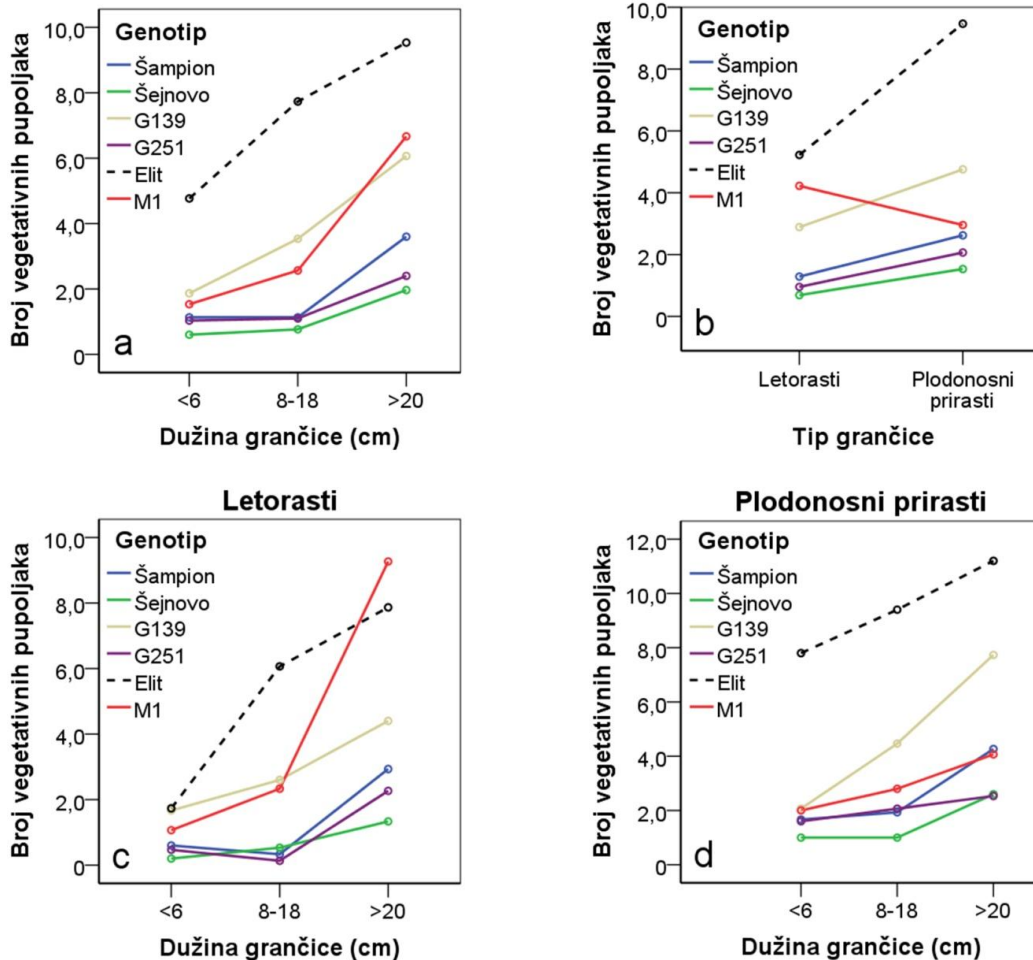
je interakcija genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice, a vrlo visoko značajan uticaj interakcije genotip  $\times$  dužina grančice, genotip  $\times$  tip grančice i dužina grančice  $\times$  tip grančice.

Ukupan prosečan broj vegetativnih pupoljaka na grančicama iznosio je 3,22. Vrlo visoko značajan uticaj na ovaj parametar ispoljili su genotip, dužina grančice i tip grančice (Tabela 5). Među ispitivanim genotipovima kod sorte Elit pronađen je najveći broj vegetativnih pupoljaka po grančici (7,34), dok je kod sorti Šejново, G251 i Šampion on bio manji od dva. Najveći prosečan broj vegetativnih pupoljaka po grančici utvrđen je u 2010. godini (3,41), a najmanji u 2012. (3,07), ali navedene razlike nisu bile statistički značajne. Na grančicama dužim od 20 cm utvrđen je najveći broj vegetativnih pupoljaka po grančici (5,04), kod grančica dužine 8-18 cm on je iznosio 2,80, a kod grančica kraćih od 6 cm 1,82. Na plodonosnim prirastima bilo je prosečno 3,90 vegetativnih pupoljaka po grančici, dok je vrednost ovog parametra na letorastima iznosila 2,54.

Utvrđena je srednje jaka pozitivna korelacija broja vegetativnih pupoljaka po grančici sa brojem nodusa na grančici ( $r = 0,629^{**}$ ), debljinom grančice ( $r = 0,500^{**}$ ) i brojem vegetativnih pupoljaka na trećem nodusu ( $r = 0,638^{**}$ ), a srednje jaka negativna korelacija sa brojem resa po grančici ( $r = -0,567^{**}$ ) i brojem resa po nodusu ( $r = -0,684^{**}$ ). Između broja vegetativnih pupoljaka po grančici i broja ženskih cvetova na prvom nodusu ispoljena je vrlo jaka pozitivna korelacija ( $r = 0,972^{**}$ ).

Na broj vegetativnih pupoljaka po grančici visoko značajan uticaj imala je interakcija genotip  $\times$  godina, a vrlo visoko značajan uticaj interakcije genotip  $\times$  dužina grančice, genotip  $\times$  tip grančice i genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice.

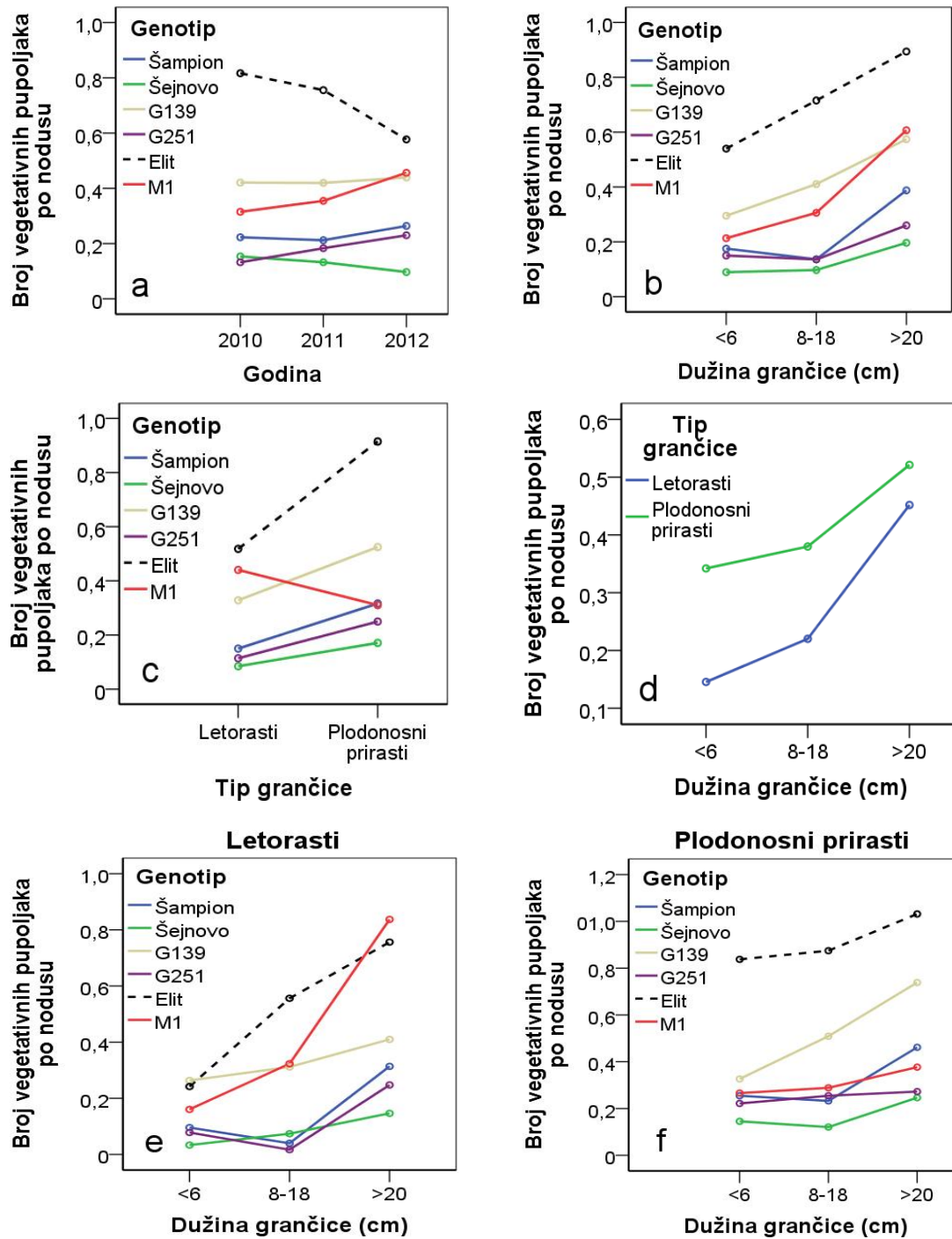
Za razliku od ostalih genotipova, kod kojih u sve tri godine nije bilo velikih odstupanja u broju vegetativnih pupoljaka na grančicama, kod sorte Elit on je u 2010. godini iznosio 8,62, dok je u 2012. godini bio značajno manji (5,71). Na grančicama sorte G139 dužine do 18 cm bio je veći prosečan broj vegetativnih pupoljaka nego kod sejanca M1, dok je kod grančica dužih od 20 cm bilo suprotno (Grafikon 12 - a).



**Grafikon 12.** Uticaj interakcija na broj vegetativnih pupoljaka na grančici: a) dužina grančice  $\times$  genotip; b) tip grančice  $\times$  genotip; c) i d) dužina grančica  $\times$  genotip  $\times$  tip grančice.

Kod većine genotipova nađeno je više vegetativnih pupoljaka na običnim letorastima, dok je kod sejanca M1 na letorastima bilo prosečno 4,22 pupoljaka, a na plodonosnim prirastima 2,96. Značajno veća razlika u broju vegetativnih pupoljaka na plodonosnim prirastima u odnosu na obične letoraste utvrđena je kod sorte Elit nego kod ostalih genotipova (Grafikon 12 - b).

Prosečan broj vegetativnih pupoljaka na letorastima dužim od 20 cm iznosio je kod sejanca M1 9,27 i bio je veći nego kod svih ostalih genotipova. Međutim, vrednost ovog parametra na plodonosnim prirastima dužine preko 20 cm iznosila je 4,07 i bila je manja nego kod sorti Šampion, G139 i Elit (Grafikon 12 - c i d).



**Grafikon 13.** Uticaj interakcija na broj vegetativnih pupoljaka po nodusu: a) genotip  $\times$  godina; b) dužina grančice  $\times$  genotip; c) tip grančice  $\times$  genotip; d) dužina grančice  $\times$  tip grančice; e) i f) dužina grančice  $\times$  genotip  $\times$  tip grančice.

Ukupan prosečan broj vegetativnih pupoljaka po nodusu iznosio je 0,34. Na ovaj parametar vrlo visoko značajan uticaj imali su genotip, dužina grančice i tip grančice



(Tabela 5). Najveći broj vegetativnih pupoljaka po nodusu imala je sorta Elit (0,72), a najmanji Šejnovo (0,13). Na najkraćim grančicama pronađeno je najmanje vegetativnih pupoljaka po nodusu (0,24), na grančicama od 8 cm do 18 cm 0,30, dok je kod grančica dužim od 20 cm ovaj parametar bio najveći (0,49). Na letorastima broj vegetativnih pupoljaka po nodusu iznosio je 0,27, a na plodonosnim mladima 0,41.

Statistički značajan uticaj na broj vegetativnih pupoljaka po nodusu ispoljila je interakcija dužina grančice  $\times$  tip grančice, visoko značajan uticaj imale su interakcije genotip  $\times$  godina, a vrlo visoko značajan uticaj interakcije genotip  $\times$  tip grančice i genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice (Grafikon 13).

#### **7.1.6. Zastupljenost vegetativnih i različitih kategorija generativnih prirasta u strukturi jednogodišnjih grančica**

Ukupna prosečna zastupljenost vegetativnih prirasta među jednogodišnjim grančicama iznosila je 1,3% (Tabela 6). Godina nije uticala značajno na ovaj parametar. Kod sorte Elit udeo vegetativnih prirasta bio je najveći (4,4%), nešto manji je bio kod sorte G139 (3,3%), dok kod ostalih genotipova nije pronađen nijedan vegetativni prirast. Razlike između genotipova, međutim, nisu bile statistički značajne. Uticaj dužine i tipa prirasta na udeo vegetativnih prirasta takođe nije bio statistički značajan. Na udeo vegetativnih prirasta u jednogodišnjem drvetu oraha nije utvrđen uticaj interakcija ispitivanih faktora.

Ukupan prosečan udeo muških grančica u strukturi jednogodišnjih grančica na nivou celog ogleda iznosio je 12,2%. Uticaj genotipa na zastupljenost muških grančica bio je vrlo visoko značajan (Tabela 6). Najveći udeo muških grančica utvrđen je kod sorte Šampion (25,6%), a najmanji kod sorte Elit (3,3%). Na zastupljenost muških grančica uticaj godine nije bio statistički značajan. Među prirastima dužine do 6 cm bilo je najviše (28,9%) muških grančica, kod prirasta dužine 8-18 cm taj udeo je iznosio 5,0%, dok je zastupljenost muških grančica među prirastima dužim od 20 cm bila najmanja (2,8%). Uticaj dužine grančica na zastupljenost muških grančica bio je vrlo visoko značajan. Broj muških grančica među letorastima iznosio je 7,8%, a među plodonosnim prirastima 16,7% i ove razlike su bile statistički vrlo visoko značajne.

**Tabela 6.** Zastupljenost vegetativnih i različitih kategorija generativnih prirasta u strukturi jednogodišnjeg drveta (%).

Faktor	Nivoi faktora	Vegetativni prirasti	Muške grančice	Ženske grančice	Kombinovane grančice	Plodonosne grančice
Genotip (A)	Šampion	0,0±0,00 a	25,6±4,62 c	1,1±1,11 a	73,3±4,7 ab	74,4±4,62 a
	Šejnovo	0,0±0,00 a	13,3±3,60 abc	0,0±0,00 a	86, ±3,60 b	86,7±3,60 ab
	G139	3,3±1,90 a	5,6±2,43 a	25,6±4,62 c	65,6±5,04 a	91,1±3,02 b
	G251	0,0±0,00 a	18,9±4,15 bc	0,0±0,00 a	81,1±4,15 ab	81,1±4,15 ab
	Elit	4,4±2,18 a	3,3±1,90 a	13,3±3,60 b	78,9±4,33 ab	92,2±2,84 b
	M1	0,0±0,00 a	6,7±2,64 ab	7,8±2,84 ab	85,6±3,73 b	93,3±2,64 b
Godina (B)	2010	1,7±0,96 a	9,4±2,19 a	8,9±2,13, a	80,0±2,99 a	88,9±2,35 a
	2011	1,7±0,96 a	12,8±2,50 a	7,2±1,93 a	78,3±3,08 a	85,6±2,63 a
	2012	0,6±0,56 a	11,4±2,63 a	7,8±1,17 a	77,2±3,13 a	85,0±2,67 a
Dužina grančice (C)	< 6 cm	1,7±0,96 a	28,9±3,39 b	2,8±1,23 a	66,7±3,52 a	69,4±3,44 a
	8-18 cm	1,1±0,78 a	5,0±1,63 a	8,3±2,07 b	85,6±2,63 b	93,9±1,79 b
	>20 cm	1,1±0,78 a	2,8±1,23 a	12,8±2,50 b	83,3±2,79 b	96,1±1,45 b
Tip grančice (D)	Letorasti	0,7±0,52 a	7,8±1,63a	4,4±1,26 a	87,0±2,05 a	91,5±1,70 a
	Plodonosni prirasti	1,9±0,82 a	16,7±2,27 b	11,5±1,94 b	70,0±2,79 b	81,4±2,37 b
Ukupan prosek		1,3±0,49	12,2±1,41	8,0±1,17	78,5±1,77	86,5±1,47
ANOVA						
A		NZ	***	***	*	***
B		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
C		NZ	***	***	***	***
D		NZ	**	***	***	***
A × B		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
A × C		NZ	NZ	***	**	NZ
A × D		NZ	NZ	***	***	NZ
B × C		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
B × D		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
C × D		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
A × B × C		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
A × B × D		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
A × C × D		NZ	NZ	***	*	NZ
B × C × D		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
A × B × C × D		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ

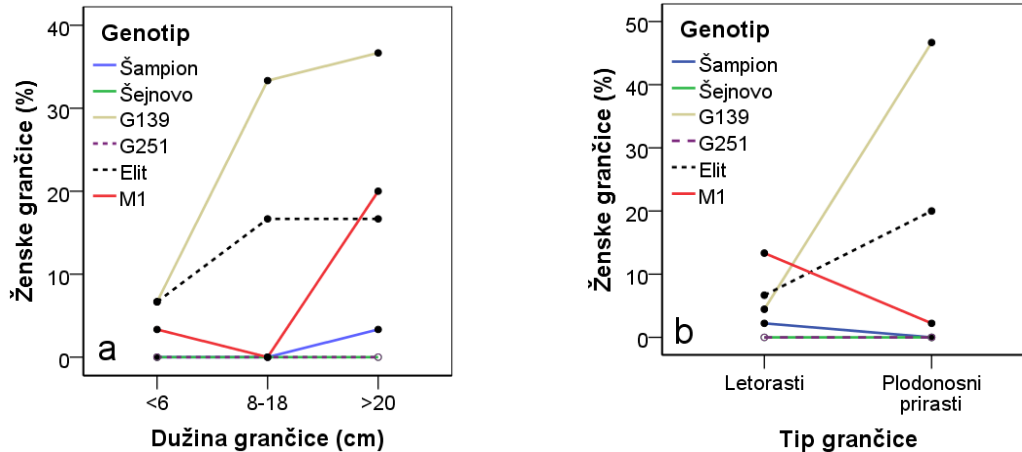
Na zastupljenost muških grančica u strukturi jednogodišnjih grančica nije utvrđen značajan uticaj interakcija ispitivanih faktora. Zastupljenost muških grančica bila je u negativnoj korelaciji sa brojem nodusa na grančici ( $r = -0,40^{**}$ ) i debljinom grančice ( $r = 0,30^{**}$ ).

Ukupan prosečan udeo ženskih grančica u strukturi jednogodišnjih grančica iznosio je 8%. Uticaj godine na zastupljenost ženskih grančica nije bio značajan, dok je uticaj ostalih faktora bio vrlo visoko značajan (Tabela 6).

Najveći broj ženskih grančica utvrđen je kod sorte G139 (25,6%), dok kod sorti Šejnovo i G251 nije pronađena nijedna ženska grančica. Najmanji broj ženskih grančica (2,8%) bio je zastupljen među grančicama dužine do 6 cm. Kod grančica dužine 8-18 cm bilo je 8,3% ženskih grančica, a najveća zastupljenost ovih grančica (12,8%) utvrđena je kod grančica dužine preko 20 cm. Razlike u zastupljenosti ženskih grančica u kategoriji jednogodišnjih grančica dužine 8-18 cm i preko 20 cm nisu bile statistički značajne. U kategoriji plodonosnih prirasta bilo je 11,5% ženskih grančica, dok je među letorastima udeo ovih grančica iznosio 4,4%.

Na zastupljenost ženskih grančica u strukturi jednogodišnjih grančica vrlo visoko značajan uticaj imale su interakcije genotip  $\times$  dužina grančice, genotip  $\times$  tip grančice i genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice. Kod sorti G139 i Elit među grančicama dužine 8-18 cm bilo je značajno više ženskih grančica nego među grančicama dužine do 6 cm (Grafikon 14 - a). Kod sejanca M1 ispoljena je suprotna tendencija. Kod ovog genotipa među grančicama dužine 8-18 cm nije bilo ženskih grančica. Na sadržaj ženskih grančica kod sorti Šejnovo i G251 dužina grančica nije imala uticaja. Kod sorti G139 i Elit kategorija plodonosnih prirasta imala je veći udeo ženskih grančica nego kategorija letorasta, dok je kod sorte Šampion i sejanca M1 bilo obrnuto (Grafikon 14 - b). Na sadržaj ženskih grančica kod sorti Šejnovo i G251 nije uticao tip grančice. Između zastupljenosti ženskih grančica i debljine grančice utvrđena je slaba pozitivna korelacija ( $r = 0,30^{**}$ ).

Ukupan prosečan udeo kombinovanih grančica u strukturi jednogodišnjih grančica iznosio je 78,5%. Na zastupljenost kombinovanih grančica značajan uticaj imao je genotip, uticaj dužine grančica i tipa grančica bio je vrlo visoko značajan, dok uticaj godine nije ispoljio statističku značajnost (Tabela 6).

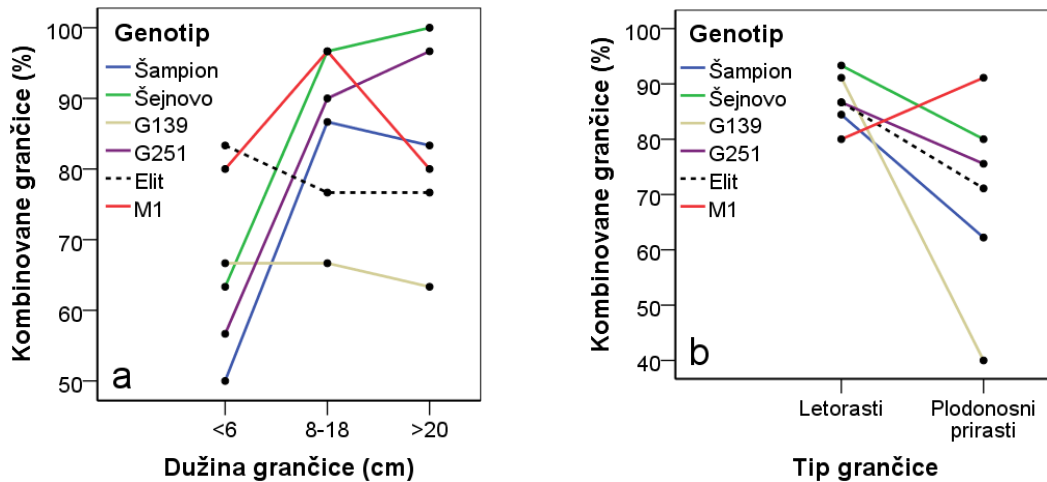


**Grafikon 14.** Uticaj interakcija na zastupljenost ženskih grančica u strukturi jednogodišnjih grančica: a) interakcija genotip × dužina grančica; b) interakcija genotip × tip grančice.

Najveći udeo kombinovanih grančica utvrđen je kod sorte Šejново (86,7%) i sejanca M1 (85,6%), a najmanji kod sorte G139 (65,6%). Među grančicama dužine do 6 cm bilo je 66,7% kombinovanih grančica, kod grančica dužine 8-18 cm 85,6%, a kod grančica dužine preko 20 cm 83,3% kombinovanih grančica. Između grančica dužine 8-18 cm i grančica preko 20 cm razlike u zastupljenosti kombinovanih grančica nisu bile statistički značajne. Letorasti su imali vrlo visoko značajno veći udeo kombinovanih grančica (87%) nego plodonosni prirasti (70%).

Na zastupljenost kombinovanih grančica značajan uticaj imala je interakcija genotip × dužina grančice × tip grančice, visoko značajan uticaj interakcija genotip × dužina grančice, a vrlo visoko značajan uticaj interakcija genotip × tip grančice.

Za razliku od sorti Šejново i G251, kod kojih je najveći udeo kombinovanih grančica utvrđen kod grančica dužine preko 20 cm, kod sejanca M1, sorte Šampion i sorte G139 najveći udeo kombinovanih grančica bio je među grančicama dužine 8-18 cm. Kod sorte Elit najviše kombinovanih grančica bilo je među grančicama dužine do 6 cm (Grafikon 15 - a). Kod većine sorti udeo kombinovanih grančica bio je veći kod letorasta nego kod plodonosnih mladara, dok je kod sejanca M1 bilo obrnuto (Grafikon 15 - b).



**Grafikon 15.** Uticaj interakcija na zastupljenost kombinovanih grančica u strukturi jednogodišnjih grančica: a) interakcija genotip × dužina grančice; b) genotip × tip grančice.

Između zastupljenosti kombinovanih grančica u strukturi jednogodišnjih grančica i broja vegetativnih pupoljaka po grančici utvrđena je slaba negativna korelacija ( $r = -0,30^{**}$ ).

Ženske grančice i kombinovane grančice nose ženske pupoljke i predstavljaju rodne grančice oraha. Ukupan prosečan udeo rodnih grančica u strukturi jednogodišnjeg drveta iznosio je 86,5%. Na udeo rodnih grančica vrlo visoko značajan uticaj imali su genotip, dužina grančice i tip grančice, dok uticaj godine nije bio statistički značajan (Tabela 6). Najveći broj rodnih grančica utvrđen je kod sejanca M1 (93,3%), sorte Elit (92,2%) i sorte G139 (91,1%), a najmanji kod sorte Šampion (74,4%). U pogledu broja rodnih grančica, između sorti Šejново i G251 nije bilo značajnih razlika. Među grančicama dužine preko 8 cm bilo je vrlo visoko značajno više rodnih grančica nego među grančicama dužine do 6 cm. Između grančica dužine 8-18 cm i grančica dužih od 20 cm u pogledu ovog parametra nije bilo značajnih razlika. Među letorastima udeo rodnih grančica iznosio je 91,5% i bio je za oko 10% veći nego kod plodonosnih prirasta.

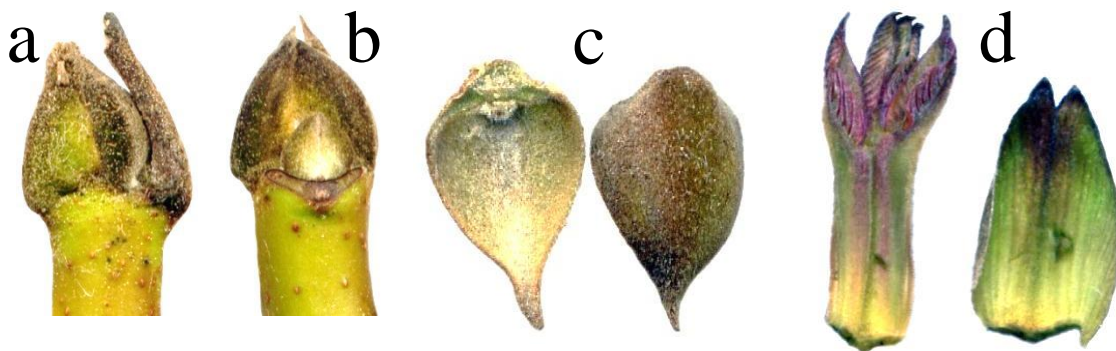
Na broj rodnih grančica nisu ispoljile značajan uticaj interakcije između ispitivanih faktora. Broj rodnih grančica bio je u pozitivnoj korelaciji sa dužinom grančice ( $r = 0,24^{**}$ ), brojem nodusa na grančici ( $r = 0,34^{**}$ ) i debljinom grančice ( $r = 0,30^{**}$ ).

## 7.2. Morfološke karakteristike ženskih reproduktivnih organa

### 7.2.1. Građa mešovitih pupoljaka

Potpuno formirani mešoviti pupoljak oraha ima oblik izdužene kupole (Slika 4 – a i b). Na segmentiranoj osovini mešovitog pupoljka nalaze se primordije različitih kategorija listova, a na vrhu osovine pupoljka izdiferencirana je cvast sa jednim ili više ženskih cvetova.

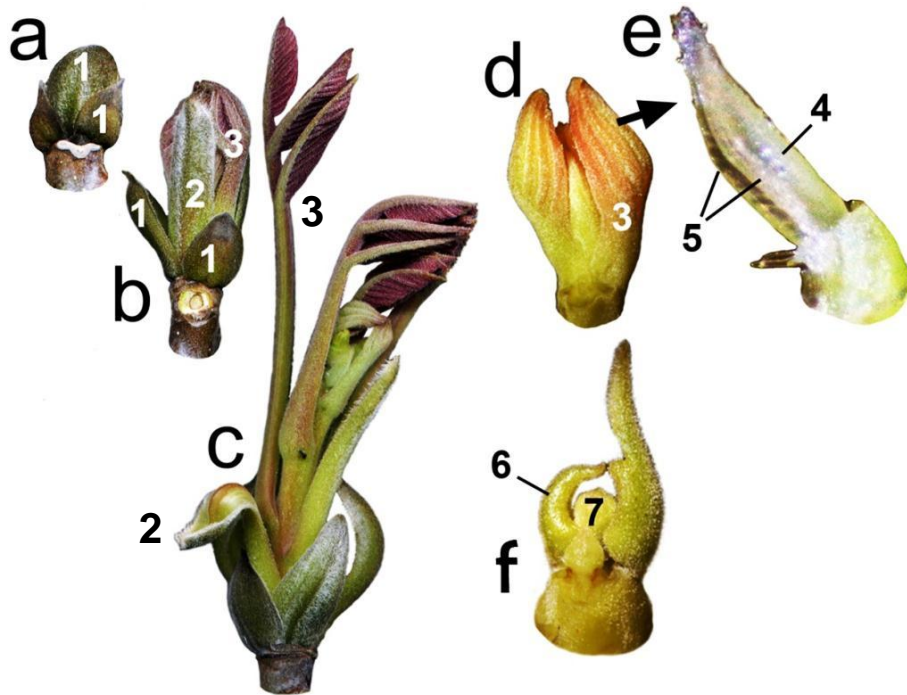
Ukupan prosečan broj lisnih primordija na osovini mešovitog pupoljka u trogodišnjem periodu ispitivanja iznosio je 18,1. Najmanji broj lisnih primordija utvrđen je kod sorte Elit (16,4), a najveći kod sorti Šampion i Šejnovo (18,8), ali ove razlike nisu bile statistički značajne. Godina takođe nije značajno uticala na veličinu navedenog parametra (Tabela 7).



**Slika 4.** Terminalni mešoviti pupoljci oraha: a) pupoljak sa prisutnim svim ljušpastim listićima; b) pupoljak kod kojeg je otpao najniži ljušpasti listić; c) ljušpasti listići posmatrani sa unutrašnje i spoljašnje strane; d) primordije prelaznih listova posmatrane sa unutrašnje strane.

Na nekoliko najnižih nodusa osovine pupoljka izdiferencirani su ljušpasti listići. Oni su zaobljeni, celi po obodu, često sa zašiljenim vrhom (Slika 4 - c). U toku vegetacionog perioda ljušpasti listići su kožasti i prekriveni maljama. Glavna uloga im je da štite unutrašnje delove pupoljka od spoljašnjih uticaja. Najniža 1-2 ljušpasta listića lignificiraju do jeseni, sasušuju se i često otpadnu u toku perioda mirovanja ili najkasnije prilikom bubrenja pupoljka. Ljušpasti listići koji se nalaze na višim nodusima otpadaju ubrzo posle otvaranja pupoljka (Slika 5 – a i b). Kao posledica ranog otpadanja

ljuspastih listića u toku perioda mirovanja, njihov broj je veći na kraju vegetacionog perioda nego u proleće, u vreme otvaranja pupoljaka. U pazuhu 1-2 najniža ljuspasta listića diferencira se, po pravilu, po jedan relativno krupan vegetativni pupoljak, koji postaje vidljiv posle otpadanja ljuspastog listića (Slika 4 – b).



**Slika 5.** Primordije listova u različitim fenofazama razvoja mešovitog pupoljka oraha: a) mešoviti pupoljak u fenofazi bubrenja; b) otvoren mešoviti pupoljak; c) rani stadijum razvoja plodonosnog mladara; d) vršni deo osovine pupoljka sa primordijama pravih listova; e) začetak liske na primordiji pravog lista; f) vrh osovine pupoljka sa braktejom i početkom ženskog cveta. 1 – ljuspasti listić; 2 – primordija prelaznog lista; 3 – primordija pravog lista; 4 – začetak lisne drške i glavnog nerva liske; 5 – začetak margine liske; 6 – brakteja; 7 – začetak ženskog cveta.

Iznad ljuspastih listića na osovini pupoljka diferencira se nekoliko primordija listova koji predstavljaju prelaznu formu između ljuspastih listića i pravih listova. Oni su takođe kožasti i veoma maljavni, zbog čega dosta podsećaju na ljuspaste listiće, ali za razliku od njih, ne podležu lignifikaciji, rast im traje duže u proleće nakon otvaranja pupoljka i kasnije otpadaju sa plodonosnog mladara (Slika 4 – d i Slika 5 – b i c).

Najniži prelazni listovi imaju najslabiji razvoj i najkraći vek, dok oni koji se nalaze na višim nodusima nekada porastu i do nekoliko centimetara i mogu da egzistiraju na plodonosnom mladaru i po više nedelja pre nego što otpadnu. Ukupan prosečan broj primordija prelaznih listova po mešovitom pupoljku iznosio je 4,0. Razlike koje su utvrđene u broju prelaznih listova po mešovitom pupoljku između godina i ispitivanih genotipova nisu bile statistički značajne (Tabela 7).

**Tabela 7.** Broj primordija različitih kategorija listova u mešovitom pupoljku oraha.

Genotip	Ljuspasti listići	Primordije prelaznih listića	Primordije pravih listića	Primordije gornjih listova	Broj nodusa na osovini pupoljka
Šampion	4,0 ± 0,45	4,2 ± 0,20	8,8 ± 0,37	1,8 ± 0,20	18,8 ± 0,73
Šejnovo	4,6 ± 0,40	3,8 ± 0,37	9,0 ± 1,05	1,4 ± 0,24	18,8 ± 1,07
G139	3,4 ± 0,24	4,0 ± 0,55	8,7 ± 0,37	2,6 ± 0,40	18,6 ± 0,58
G251	3,9 ± 0,32	3,6 ± 0,51	8,8 ± 1,58	1,6 ± 0,25	18,1 ± 0,45
Elit	3,6 ± 0,24	4,2 ± 0,37	7,2 ± 0,20	1,4 ± 0,24	16,4 ± 0,41
M1	4,6 ± 0,60	4,4 ± 0,24	7,2 ± 0,37	2,1 ± 0,32	18,2 ± 0,86
Prosek	4,0 ± 0,17	4,0 ± 0,16	8,3 ± 0,25	1,8 ± 0,13	18,1 ± 0,31

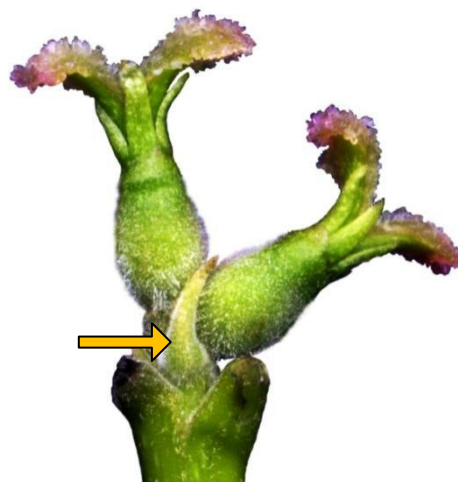
Iznad primordija prelaznih listova na osovini mešovitog pupoljka nalaze se primordije pravih listova. One su svetlo zelene boje, prekrivene finim dlačicama, koje su brojnije sa ventralne (unutrašnje) strane primordija. Primordija pravog lista sastoji se od začetka glavne lisne drške, na kojoj su izdiferencirani začeci pojedinačnih liski, koji podsećaju na reznjeve (Slika 5 – c, d i e). Ukupan prosečan broj primordija pravih listova u mešovitim pupoljcima iznosio je 8,3. Najmanji broj primordija pravih listova imali su mešoviti pupoljci sorte Elit i sejanca M1 (7,2), a najveći broj začetaka pravih listova utvrđen je u mešovitim pupoljcima sorte Šejnovo (9,0). Razlike između genotipova, kao i između godina nisu bile statistički značajne. Veličina i stepen diferencijacije primordija pravih listova smanjivali su se od nižih prema višim nodusima osovine pupoljka (Slika 6).





**Slika 6.** Lisne primordije mešovito pupoljka oraha.

Iznad primordija pravih listova, neposredno ispod začetaka ženske cvasti, nalaze se najčešće 1-3 lisne primordije na kojima nema reznjeva. To su primordije gornjih listova, u čijim se pazusima diferencira osovina ženske cvasti (Slika 5 – f i Slika 7). Gornji listovi otpadaju ubrzo posle otvaranja pupoljka. Ukupan prosečan broj primordija gornjih listova po mešovitom pupoljku iznosio je 1,8. Najmanji broj primordija gornjih listova utvrđen je kod sorti Šejnovo i Elit (1,4), a najveći kod sorte G139 (2,6). Razlike između genotipova, kao i između godina u pogledu broja primordija gornjih listova u mešovitim pupoljcima nisu bile statistički značajne.



**Slika 7.** Listić u čijem pazuhu je formirana ženska cvast.

Kod svih ispitivanih sorti razvojem mešovitog pupoljka nastaje plodonosni mladac. Na njegovom vrhu nalazi se cvast sa ženskim cvetovima, dok se bočno u pazuhu listova od bočnih kupa diferenciraju pupoljci, koji mogu biti vegetativni, ili generativni (mešoviti pupoljci i rese) (Slika 5 – c). Kod većine plodonosnih mladara vršne 1-3 vegetativne kupe ne diferenciraju se u pupoljke, već se od njih obrazuju prevremeni prirasti različite razvijenosti, koji na sebi mogu nositi vegetativne pupoljke, mešovite pupoljke i rese.

### 7.2.2. Građa ženskih cvetova

Ženski cvetovi u vreme cvetanja nalaze se pojedinačno ili u cvastima (klasovima) na vrhovima plodonosnih mladara, koji se u godini cvetanja razvijaju iz mešovitih pupoljaka, diferenciranih u protekloj vegetaciji (Slika 8).



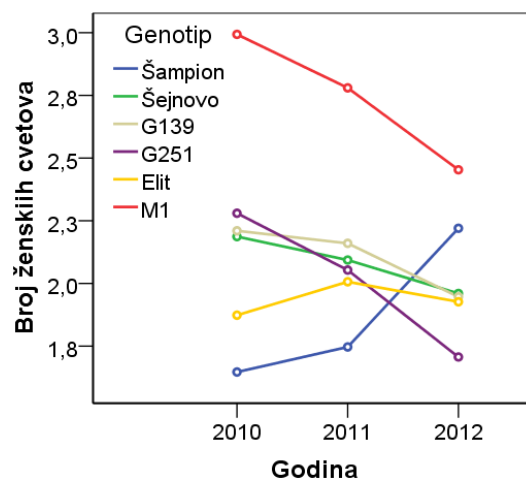
Slika 8. Ženske cvasti oraha.

Ukupan prosečan broj ženskih cvetova po cvasti za sve tri godine istraživanja iznosio je 2,1. Kod spontanog sejanca M1 utvrđen je najveći prosečan broj ženskih cvetova po cvasti (2,7). Ova vrednost bila je vrlo visoko značajno veća u odnosu na ostale genotipove, kod kojih je ona iznosila od 1,9 (kod sorti Šampion i Elit) do 2,1 (kod sorti Šejnovo i G139). Razlike između ostalih sorti nisu bile statistički značajne (Tabela 8). Kod sejanca M1 ustanovljena je i najveća vrednost ovog parametra u okviru čitavog ogleda, koja je iznosila šest ženskih cvetova po cvasti. Vrednosti ovog parametra varirale su, u zavisnosti od godine, od 2,0 do 2,2, ali ove razlike nisu bile statistički značajne.

**Tabela 8.** Uticaj genotipa i godine na broj ženskih cvetova u cvastima.

Faktor	Nivoi faktora	Broj ženskih cvetova u cvastima
Genotip (A)	Šampion	1,9 ± 0,10 a
	Šejново	2,1 ± 0,06 a
	G139	2,1 ± 0,07 a
	G251	2,0 ± 0,07 a
	Elit	1,9 ± 0,06 a
	M1	2,7 ± 0,13 b
Godina (B)	2010	2,2 ± 0,07 a
	2011	2,1 ± 0,07 a
	2012	2,0 ± 0,06 a
Prosek		2,1 ± 0,04
ANOVA		
A		***
B		NZ
A × B		**

Interakcija genotip × godina imala je visoko značajan uticaj na broj ženskih cvetova po cvasti. Za razliku od većine genotipova, kod kojih je najveći broj ženskih cvetova po cvasti utvrđen u 2010. godini, a najmanji u 2012. godini, kod sorte Šampion vrednost ovog parametra bila je najveća u 2012. godini (2,2), a kod sorte Elit u 2011. godini (2,0) (Grafikon 16).

**Grafikon 16.** Uticaj interakcije genotip × godina na broj ženskih cvetova u cvastima.

Ženski cvet oraha je maljav, zelene boje, bez kruničnih listića, sa četiri zelena i neugledna čašična listića. Tučak je potcvetan, nastao srastanjem dve karpele. Obavijen

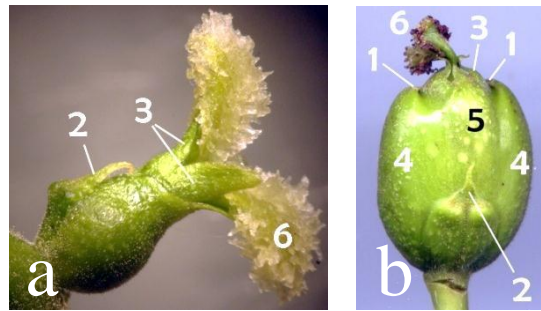
je involukrumom, u čijoj izgradnji učestvuju čašični listići, brakteja i dve brakteole (Slika 9 - a). Površina ženskog cveta je lepljiva usled prisustva smolaste materije, koju izlučuju gusto raspoređene žlezdane dlake (Slika 9 - b).

U donjem delu involukruma srasli delovi se ne mogu pojedinačno razlikovati, dok su u njegovom gornjem delu vidljivi njihovi manje ili više slobodni vrhovi. Slobodni delovi čašičnih listića izbijaju ispod ruba spoljašnjeg sloja involukruma, kojeg grade brakteje i brakteole. Čašični listići su zašiljeni na vrhu, okružuju stubić i vrhovima obično dostižu visinu žigova. Dva čašična listića su postavljena u medijalnoj ravni i rastu paralelno sa karpelama. Preostala dva čašična listića nalaze se u transverzalnoj ravni (koja je normalna na ravan karpela). Vrhovi brakteola imaju izgled jedva приметnih talasastih nabora na rubu involukruma, dok slobodni deo brakteje podseća na jezičak, koji je nekoliko puta kraći i nešto niže postavljen u odnosu na vrhove čašičnih listića.



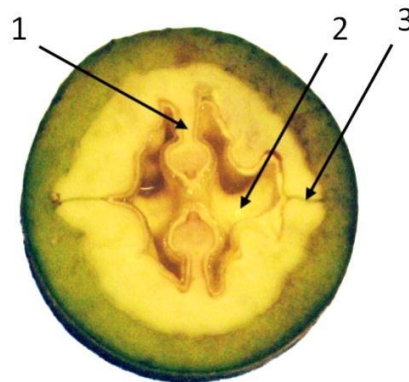
**Slika 9.** Spoljašnji izgled ženskog cveta oraha: a) ženski cvetovi sorte Šejново u fenofazi punog cvetanja; b) višćelijske žlezdane dlake na površini ženskog cveta. 1 – žig; 2 – gornji, slobodni deo čašičnog listića; 3 – gornji deo involukruma; 4 – plodnik.

Kod nekih genotipova u pojedinim godinama uočeni su defektni ženski cvetovi i plodovi sa nepotpuno razvijenim involukrumom. Oni predstavljaju pogodan model na kojem se jasno vide položaji brakteje i brakteola na cvetu, kao i njihov doprinos u obrazovanju tkiva involukruma (Slika 10 - a).



**Slika 10.** Poremećaji u formiranju involukruma: a) defektan ženski cvet u fenofazi precvetavanja; b) defektan mladi plod. 1 – vrhovi brakteola; 2 – brakteja zaostala u razvoju; 3 – gornji delovi čašičnih listića; 4 – deo involukruma koji izgrađuju brakteole; 5 – donji deo čašičnih listića koji je vidljiv usled odsustva dela involukruma; 6 – žig.

Tučak se sastoji od zadebljalog plodnika, kratkog stubića i krupnog žiga. Žig je dvoperast, velike površine, sa gornje strane jako naboran i prekriven lepljivom tečnošću.



**Slika 11.** Položaj primarne i sekundarne pregrade plodnikove šupljine na poprečnom preseku mladog ploda oraha: 1 – primarna pregrada, 2 – sekundarna pregrada, 3 – šav perikarpa.

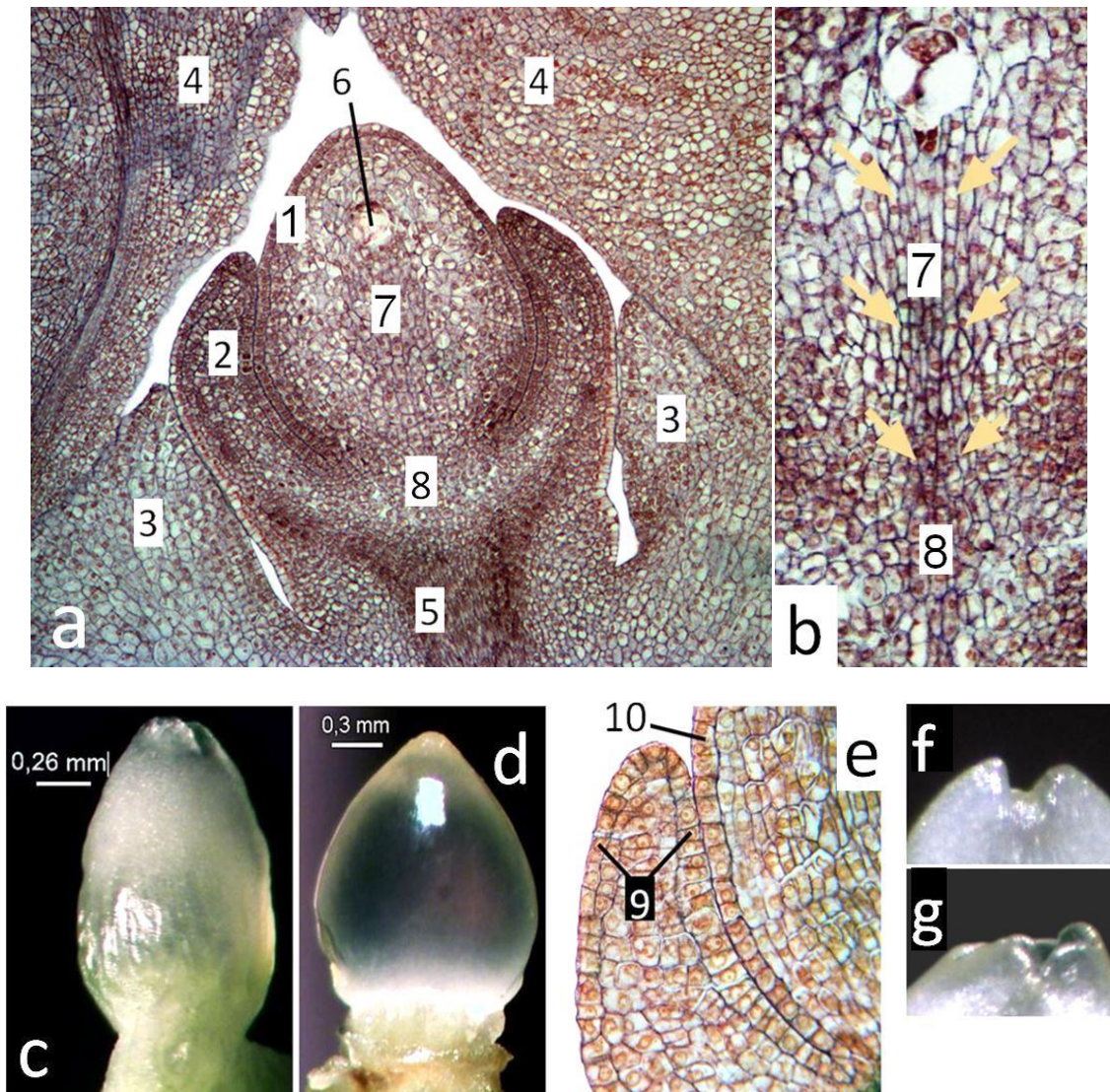
Zid plodnika zatvara plodnikovu šupljinu, koja je dvema nepotpunim pregradama (velikom i malom) delimično izdvojena na četiri dela (Slika 11). Velika (primarna) pregrada je orjentisana u transverzalnoj ravni i spaja ivice karpela. Ona rastom dostiže približno jednu polovinu visine plodnikove šupljine. Mala (sekundarna) pregrada se prostire u medijalnoj ravni, povezujući središnje zone karpela. Sekundarna pregrada je

niža od primarne pregrade, sa kojom se ukršta pod pravim uglom. Primarna i sekundarna pregrada su čvrsto srasle na mestu gde se ukrštaju.

U osnovi plodnikove šupljine nalazi se jedan ortotropan semeni zametak. U građi semenih zametaka nisu uočene genotipske razlike. Semeni zametak oraha sastoji se od centralnog dela (nucelusa), koji čini glavnu masu semenog zametka u vreme cvetanja, i jednog omotača (integumenta), koji obavija nucelus (Slika 12 – a, c i d). Na vrhu semenog zametka integument formira relativno širok mikropilarni otvor. Na distalnom kraju integumenta nalaze se režnjevi. Uočene su razlike između genotipova u pogledu izraženosti i oblika režnjeva (Slika 12 – f i g). Na histološkim presecima debljina razvijenih integumenata iznosila je 7-10 slojeva ćelija, sa prosečnom vrednošću od 7,9 slojeva. Semeni zametak je sedećeg tipa, pošto se pravi funikulus ne razvija, već vezu između placente i semenog zametka u morfološkom pogledu čini halaza.

Iz placente do osnove semenog zametka vodi provodni snopić, kojim se dopremaju hranljive materije do semenog zametka. U osnovi semenog zametka provodni snopić se grana u pravcu integumenta, ne ulazeći u nucelus. Halaza je izgrađena od dva tipa ćelija. U središnjem delu halazne zone, nalazi se manja grupa kompaktnih izodijametralnih ćelija sa zadebljalim zidovima, koje izgrađuju hipostazu (Slika 12 – a i b). Od placente, obavijajući hipostazu, do embrionove kesice prostire se zona u obliku uskog konusa, koju čine izdužene tankozidne ćelije (Slika 12 – b).

Prazan prostor između semenog zametka i unutrašnjeg zida plodnika ispunjava tkivo koje se sastoji od izduženih, tankozidnih ćelija, koje su usmerene radijalno, od placente prema periferiji plodnika. Ovo tkivo je histološki povezano sa primarnom pregradom, ali je uvek jasno odvojeno od tkiva semenog zametka i karpela. Zbog oblika koji ova tkiva imaju na histološkim preparatima uzdužnog preseka ženskog cveta, nazivaju se često krilastim izraštajima (Slika 12 – a). Neposredno posle oplodjenja krilasti izraštaji dostižu visinu vrha nucelusa. Posle oplodjenja krilasti izraštaji se razgrađuju.



**Slika 12.** Građa semenog zametka oraha: a) uzdužni presek semenog zametka i okolnog tkiva; b) uvećan detalj uzdužnog preseka semenog zametka sa hipostazom i snopićem parenhimskih ćelija koji spaja hipostazu i embrionovu kesicu; c) prirodni izgled semenog zametka; d) prirodni izgled nucelusa; e) uvećani detalj uzdužnog preseka epidermisa integumenta i nucelusa; f) distalni deo integumenta sorte Elit; g) distalni deo integumenta sorte Šampion. 1 – nucelus; 2 – integument; 3 – krilasti izraštaji; 4 – karpele; 5 – provodni snopić semenog zametka; 6 – embrionova kesica; 7 – snopić parenhimskih ćelija koji povezuje hipostazu i embrionovu kesicu; 8 – hipostaza; 9 – epidermis integumenta; 10 – epidermis nucelusa.

Nucelus je izgrađen pretežno od jednojedarnih meristemskih ćelija, zaobljenih ivica i izduženih u radijalnom pravcu. Nucelus je pokriven kompaktnim slojem

pravougljih epidermalnih ćelija, koje sadrže krupno i dobro uočljivo jedro. Na površini integumenta, sa njegove spoljašnje i sa unutrašnje strane, nalazi se takođe jednoslojni epidermis, čije ćelije oblikom veoma podsećaju na epidermalne ćelije nucelusa (Slika 12 – e).

U nucelusu se obrazuje embrionova kesica *Polygonum* tipa, koja na preseccima ženskog cveta izvedenim u medijalnoj ravni u vreme punog cvetanja ima srcast oblik, pri čemu je mikropilarni kraj proširen, a halazni sužen. Vrlo se retko dešava da se sva jedra embrionove kesice prilikom sečenja histološkog preparata nalaze u istoj ravni, tako da je na histološkim preparatima obično vidljiv manji broj jedara nego što ih stvarno ima u embrionovoj kesici.

Na halaznom kraju embrionove kesice nalazi se udubljenje, u kojem su smeštene tri relativno sitne antipodne ćelije, trouglastog oblika i delimično vakuolizirane citoplazme. Ćelijski zidovi antipoda bili su na histološkim preparatima dobro vidljivi. Na mikropilarnom kraju embrionove kesice nalaze se tri krupna jedra ćelija jajnog aparata. Identifikacija jedara jajnog aparata zasnivala se na njihovoj veličini, položaju i građi, pošto zidovi ćelija jajnog aparata na preparatima nisu često bili jasno vidljivi. Jedro jajne ćelije nalazi se bliže centru embrionove kesice, malo je krupnije i ima jače izraženo jedarce nego jedra sinergida. Prostor između antipoda i ćelija jajnog aparata ispunjava centralna ćelija embrionove kesice, čiji najveći deo zauzima jedna ili više krupnih vakuola. Položaj polarnih jedara na histološkim preparatima bio je različit. Polarna jedra su se najčešće nalazila neposredno ispod jedara jajnog aparata i bila su priljubljena jedno uz drugo. Na nekim preparatima polarna jedra su se nalazila u donjoj polovini embrionove kesice i bila su međusobno udaljena.

Iako u građi ženskih cvetova nisu uočene bitne genotipske razlike, kod pojedinih genotipova utvrđena je učestalija pojava defektnih cvetova. Pored već opisanih poremećaja u formiranju involukruma kod sejanca M1, u uslovima kada je posle zakasnelog proleća toplo vreme izazvalo ubrzan razvitak ženskih cvetova, kod sorte Elit uočena je češća pojava ženskih cvetova sa slabo razvijenim žigovima.

### **7.2.3. Morfometrija ženskih cvetova i semenih zametaka**

Ukupna prosečna dužina ženskih cvetova, merena od osnove cveta do najviše tačke žiga, iznosila je 9 mm. Na veličinu ovog parametra vrlo visoko značajan uticaj



imali su genotip i godina (Tabela 9). Najveća prosečna dužina ženskih cvetova utvrđena je kod sorte Elit (10,1 mm), a najmanja kod spontanog sejanca M1 (8,0 mm). Dužina ženskih cvetova u 2012. godini bila je veća za 1,3 mm nego u 2011.

Ukupna prosečna širina ženskih cvetova bila je 3,6 mm. Razlike između genotipova u pogledu ovog parametra nisu bile statistički značajne. Širina ženskih cvetova u 2012. godini bila je za 0,4 mm veća nego u 2011. Navedena razlika između godina bila je vrlo visoko značajna (Tabela 9).

**Tabela 9.** Uticaj godine i genotipa na veličinu ženskih cvetova i semenih zametaka (mm).

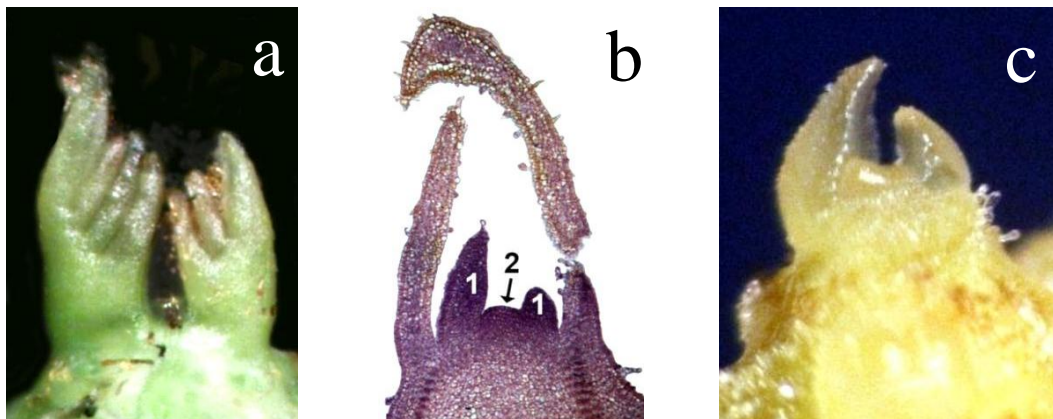
Faktor	Nivoi faktora	Dužina ženskih cvetova	Širina ženskih cvetova	Dužina semenih zametaka	Širina semenih zametaka
Genotip (A)	Šampion	9,5 ± 0,39 cd	3,4 ± 0,18 a	0,54 ± 0,01 a	0,53 ± 0,01 a
	Šejnovno	8,6 ± 0,30 ab	3,7 ± 0,10 a	0,56 ± 0,02 a	0,59 ± 0,02 b
	G139	8,8 ± 0,21 abc	3,5 ± 0,12 a	0,52 ± 0,02 a	0,51 ± 0,01 a
	G251	9,2 ± 0,36 bc	3,5 ± 0,16 a	0,53 ± 0,01 a	0,55 ± 0,01 ab
	Elit	10,1 ± 0,20 d	3,8 ± 0,10 a	0,58 ± 0,01 a	0,59 ± 0,01 b
	M1	8,0 ± 0,24 a	3,5 ± 0,06 a	0,54 ± 0,01 a	0,54 ± 0,01 a
Godina (B)	2011	8,4 ± 0,16 b	3,4 ± 0,04 b	0,55 ± 0,01 a	0,55 ± 0,01 a
	2012	9,7 ± 0,17 a	3,8 ± 0,08 a	0,54 ± 0,01 a	0,55 ± 0,01 a
Ukupni prosek		9,0 ± 0,14	3,6 ± 0,05	0,55 ± 0,01	0,55 ± 0,01
ANOVA					
A		***	NZ	NZ	***
B		***	***	NZ	NZ
A × B		NZ	NZ	NZ	NZ

Ukupna prosečna dužina, kao i širina, semenih zametaka iznosila je 0,55 mm. Na dužinu semenih zametaka genotip i godina nisu ispoljili značajan uticaj, dok je širina semenih zametaka vrlo visoko značajno zavisila od genotipa. Najveća širina semenih zametaka utvrđena je kod sorti Šejnovno i Elit (0,59 mm), a najmanja kod sorte G139 (0,51 mm) (Tabela 9).

Srednje jaka pozitivna korelacija utvrđena je između dužine i širine ženskih cvetova ( $r = 0,502^{**}$ ), kao i između dužine i širine semenih zametaka ( $r = 0,558^{**}$ ), dok je korelacija između dimenzija ženskih cvetova i dimenzija semenih zametaka bila slaba ( $r < 0,1$ ).

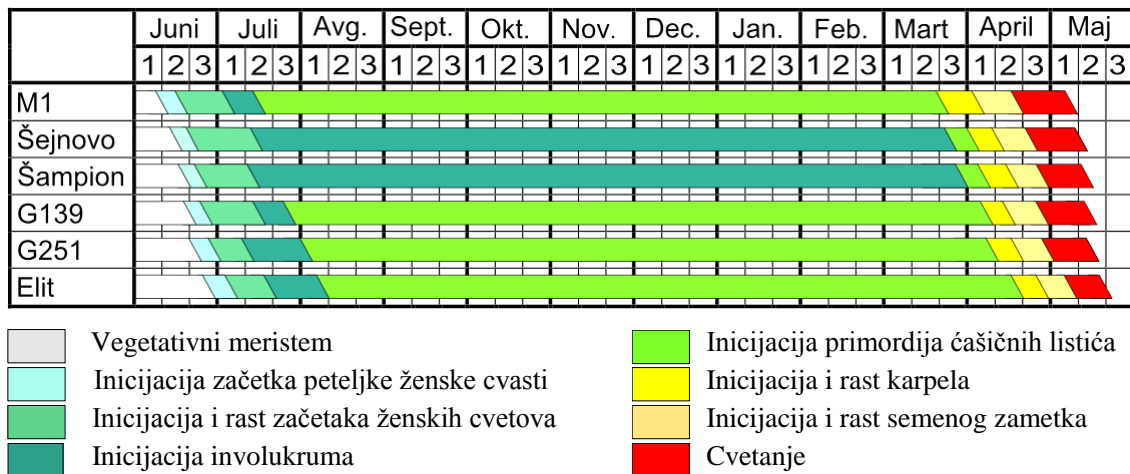
#### 7.2.4. Morfogeneza ženskih cvetova

Kod svih ispitivanih genotipova karakteristične faze morfogeneze ženskog cveta odvijale su se sukcesivno i istim redosledom. U toku vegetativne faze razvitka, apikalni meristem formira primordije pravih listova na kojima su uočljivi reznjevi koji predstavljaju začetke liski (Slika 13 – a i b). Prestanak diferenciranja pravih listova i pojava primordija primarnih brakteja (kojih ima obično 1-2) predstavlja jedan od najranijih znakova da je apikalni meristem ušao u generativnu fazu razvoja.



**Slika 13.** Inicijacija generativnog meristema: a) primordije pravih listova na vršnom delu vegetativnog pupoljka; b) uzdužni presek vrha vegetativnog pupoljka; c) vršni deo konusa rasta mešovitog pupoljka sa dve primordije primarnih brakteja i začetkom osovine cvasti na čijem vrhu se nalazi zaravnat apikalni meristem. 1 – primordije pravih listova; 2 – apikalni meristem.

Istovremeno sa inicijacijom primordija primarnih brakteja, dešavaju se morfološke promene na apikalnom meristemu. Njegova površina, koja je do tada bila ispupčena, proširuje se, zaravnava se i izdiže se oko 0,05 mm iznad osnove primarne brakteje. Na formiranom produžetku, koji predstavlja začetak drške ženske cvasti, ne diferenciraju se nove primordije listova (Slika 13 – c). Kod sejanca M1 prve morfološke promene na apikalnom meristemu uočene su, u zavisnosti od godine, krajem prve i početkom druge dekade juna, kod sorti Šejново, Šampion, G139 i G251 u toku druge dekade juna, a kod sorte Elit krajem juna i početkom jula (Grafikon 17). Razlika u vremenu započinjanja morfoloških promena na apikalnom meristemu među pupoljcima istog stabla iznosila je nekoliko dana.

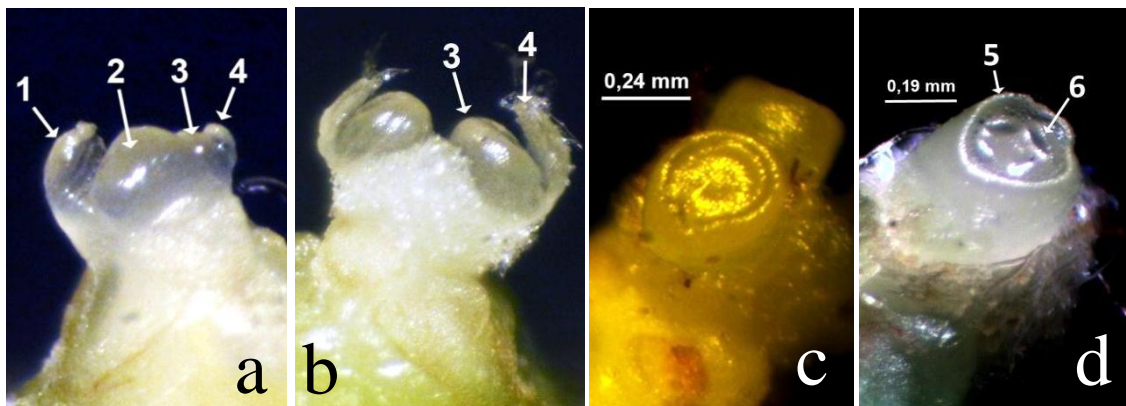


**Grafikon 17.** Dinamika morfogeneze ženskih cvetova oraha. Vremenski termini dešavanja razvojnih stadijuma prikazani su kao prosečne vrednosti za 2010, 2011. i 2012. godinu.

Oko nedelju dana nakon zaravnavanja apikalnog meristema, na apikalnom meristemu počinju da se pojavljuju začeci ženskih cvetova. Oni u početku imaju oblik nepravilnih grbica, sa malom izraslinom na jednoj strani, koja predstavlja primordiju sekundarne brakteje (Slika 14 – a). Posle jedne nedelje intenzivnog rasta, začeci ženskih cvetova dobijaju oblik polulopte, a u narednih 7-10 dana poprimaju cilindričan oblik, sa ravnom ili malo udubljenom gornjom površinom (Slika 14 – b). U ovom stadijumu prečnik primordija ženskih cvetova iznosio je 0,30-0,35 mm. Do sredine jula, začeci ženskih cvetova kod svih genotipova imali su cilindričan oblik. Uporedo sa intenzivnim rastom začetka ženskog cveta, raste i primordija sekundarne brakteje, koja ubrzo nadrađa začetak ženskog cveta i pokriva ga u vidu poklopca.

Kod sejanca M1 već u prvoj dekadi jula po obodu začetka ženskog cveta počinje da se izdiže inicijalno tkivo involukruma u obliku prstena (Slika 14 – c). Kod sorti Šejново, Šampion, G139 i G251 to se dešava pretežno u drugoj dekadi jula, a kod sorte Elit u trećoj dekadi jula i prvoj dekadi avgusta. Kod sorti Šejново i Šampion do kraja vegetacionog perioda nisu uočene značajnije morfološke promene na začecima ženskih cvetova, dok kod ostalih genotipova oko 2-3 nedelje posle inicijacije involukruma počinje inicijacija primordija čašičnih listića. Pojava primordija čašičnih listića kod sejanca M1 može se uočiti već od sredine jula, dok kod sorte Elit inicijacija primordija

čaišćnih listića poćinje krajem prve dekade avgusta. Od polovine avgusta do kraja vegetacije diferencijacija ųenskih cvetova bila je veoma usporena. Kod sorti ųejnovo i ųampion zaćeci ųenskih cvetova ulaze u period mirovanja sa iniciranim tkivom involukruma koje se jedva primetno izdiųe iznad ivice primordije ųenskog cveta. Kod ostalih genotipova na završetku vegetacionog perioda na primordijama ųenskih cvetova visina prstena involukruma iznosila je oko 0,02-0,05 mm, a sa njegove unutrašnje strane bile su inicirane primordije čaišćnih listića, visine oko 0,01-0,05 mm (Slika 14 – d).

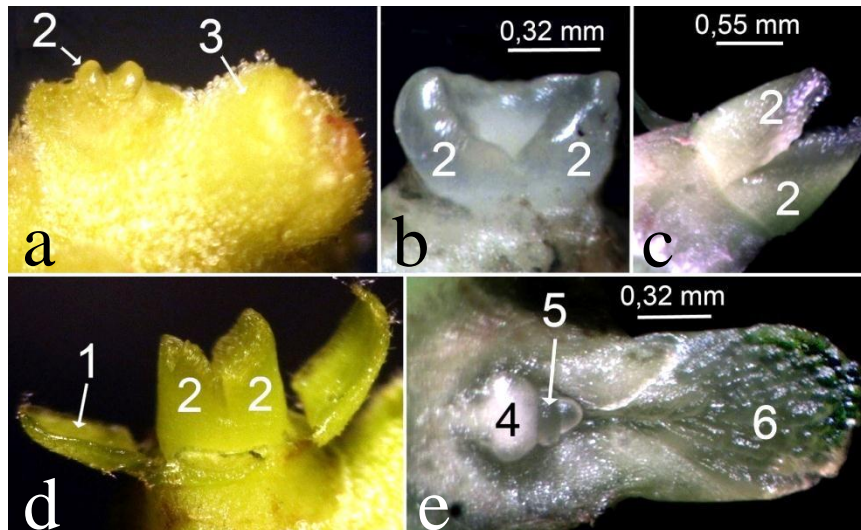


**Slika 14.** Diferencijacija ųenskih cvetova oraha u toku juna i jula: a) inicijacija osovine ųenskih cvetova; b) zaćeci ųenskih cvetova u stadijumu poluloptastih kvrųica; c) inicijacija involukruma na zaćecima ųenskih cvetova koji su dostigli cilindrićni oblik; d) inicijacija čaišćnih listića. 1 – primordija primarne brakteje; 2 – zaćetak osovine ųenske cvasti; 3 – zaćetak ųenskog cveta; 4 – sekundarna brakteja; 5 – inicijalno tkivo involukruma; 6 – primordija čaišćnog listića.

ųenska cvast oraha sastoji se od kratke osovine, na kojoj se nalaze sedeći cvetovi. Cvet koji ima terminalnu poziciju u cvasti formira se po pravilu najkasnije. Razlike u dinamici diferencijacije ųenskih cvetova uoćljivije su u cvastima koje se sastoje od većeg broja cvetova nego u cvastima koje imaju samo 2-3 cveta.

U proleće, nakon završetka perioda zimskog mirovanja, paralelno sa bućenjem mešovutih pupoljaka nastavlja se proces diferencijacije ųenskih cvetova. Kod sorte ųejnovo poćetkom treće dekade marta, a kod sorte ųampion nekoliko dana kasnije, tkivo involukruma se izdiųe i proširuje, a unutar ovog prstena zapoćinje inicijacija primordija čaišćnih listića. Kod ostalih genotipova, kod kojih su još u toku jeseni

inicirane primordije čašičnih listića, započinje njihov intenzivan rast. Kad vrhovi primordija čašičnih listića počnu da se dodiruju, prečnik začetaka ženskih cvetova iznosi od 0,5 do 0,8 mm. U tom momentu na centralnom delu generativnog meristema, započinje inicijacija karpela, koje u početku imaju oblik dve kvržice i postavljene su jedna naspram druge (Slika 15 - a).



**Slika 15.** Formiranje karpela oraha: a) inicijacija karpela; b), c) i d) izgled karpela sa bočne strane u različitim fazama diferencijacije; e) Izgled primordije semenog zametka i unutrašnje strane karpele 3-4 dana pred otvaranje ženskih cvetova. 1 – primordija čašičnog listića; 2 – primordija karpele; 3 – začetak ženskog cveta; 4 – tkivo krilastih izraštaja; 5 – primordija semenog zametka; 6 – deo karpele od kojeg se formira žig.

Primordije karpela najpre se pojavljuju kod sejanca M1 (pretežno u trećoj dekadi marta), kod sorte Šejново u prvoj dekadi aprila, kod sorti Šampion, G139 i G251 krajem prve i u toku druge dekade aprila, a kod sorte Elit krajem druge i tokom treće dekade aprila (Grafikon 17). Primordije karpela se brzo razvijaju, tako da se na svakoj od njih uskoro diferenciraju tkiva od kojih će se formirati stubić i žig (Slika 15 – b, c, d i e). Bočne strane karpela počinju da srastaju od osnove prema vrhu. Na taj način započinje formiranje ovarijalne šupljine i stilusnog kanala plodnika. Ubrzo počinje obrazovanje primarne pregrade plodnika u medijalnoj ravni cveta, a nešto kasnije i sekundarne pregrade, koja je orjentisana u pravcu transverzalne ravni.

Kada primordije karpela porastu toliko da im vrhovi dodiruju čašične listiće, začeci ženskih cvetova imaju prečnik oko 0,8-1,2 mm. U tom momentu, u plodnikovoj duplji oraha na središnjem delu uzvišenja koje se izdiže sa placente dolazi do inicijacije semenog zametka. Pojava primordija semenog zametka dešava se najpre kod sejanca M1 (pretežno u prvoj dekadi aprila), a najkasnije kod sorte Elit (krajem aprila i u prvoj dekadi maja) (Grafikon 17). Ubrzo posle inicijacije integumenta, na primarnoj pregradi plodnika počinju da se formiraju krilasti izraštaji, koji, zahvaljujući intenzivnom rastu, brzo ispunjavaju prostor između semenog zametka i karpela.

**Tabela 10.** Fenologija listanja i cvetanja ženskih cvetova.

Genotip	Početak listanja		Početak cvetanja		Početak punog cvetanja		Kraj punog cvetanja		Završetak cvetanja		Trajanje cvetanja (dani)
	Datum	BD <sup>1</sup>	Datum	BD	Datum	BD	Datum	BD	Datum	BD	
Šejnovno	<b>4. IV</b>	-	<b>23. IV</b>	-	<b>26. IV</b>	-	<b>8. V</b>	-	<b>11. V</b>	-	18
M1	6. IV	+2	18. IV	-5	21. IV	-5	4. V	-4	7. V	-4	19
Šampion	6. IV	+2	27. IV	+4	30. IV	+4	11. V	+3	13. V	+2	16
G139	9. IV	+5	27. IV	+4	30. IV	+4	12. V	+4	14. V	+3	17
G251	18. IV	+14	29. IV	+6	1. V	+5	13. V	+5	15. V	+4	16
Elit	24. IV	+20	7. V	+14	9. V	+13	18. V	+10	20. V	+9	13

<sup>1</sup>BD: Broj dana u odnosu na kontrolu (sorta Šejnovno).

Približavanjem vremena otvaranja ženskih cvetova rast karpela se sve više intenzivira, što ima za posledicu brzo povećanje širine i dužine tučka. Perasti žigovi se ubrzano izdužuju, podižu čašične listiće i izviruju iznad ivice involukruma. Tri do četiri dana pošto žigovi postanu vidljivi, započinje njihovo razmicanje. U roku od 3-5 dana žigovi se toliko razmaknu da međusobno grade ugao od 45°. U toku sledećih nekoliko dana žigovi se potpuno razmaknu, tako da im se vrhovi savijaju često ispod nivoa osnove žiga. Površina žigova zatim postepeno gubi sjaj, kao posledica isušivanja tkiva, da bi posle nekoliko dana počele da se pojavljuju tamne mrlje od periferije žigova prema njihovom središnjem delu. Toplo i suvo vreme ubrzava isušivanje i tamnjenje žigova.

Među proučavanim genotipovima najranijim početkom listanja odlikuje se sorta Šejnovno (prosečno 4. aprila), a zatim sledi spontani sejanac M1 i sorte Šampion, G139,

G251 i Elit (Tabela 10). Kod sorte Elit listanje počinje u proseku 24. aprila, što u odnosu na sortu Šejново predstavlja kašnjenje od približno tri nedelje.

Najranije počinju da cvetaju ženski cvetovi sejanca M1 (prosečno 18. aprila), a zatim slede cvetovi sorti Šejново, Šampion, G139, G251 i Elit. Vremenski razmak između početka cvetanja ženskih cvetova najranijeg i najkasnijeg genotipa iznosio je 19 dana (Tabela 10). Cvetanje ženskih cvetova trajalo je najduže kod sejanca M1 (19 dana), a najkraće kod sorte Elit (13 dana). Puno cvetanje trajalo je najkraće kod sorte Elit (prosečno devet dana), a najduže kod sejanca M1 (13 dana). Završetak cvetanja usledio je 2-3 dana posle punog cvetanja.

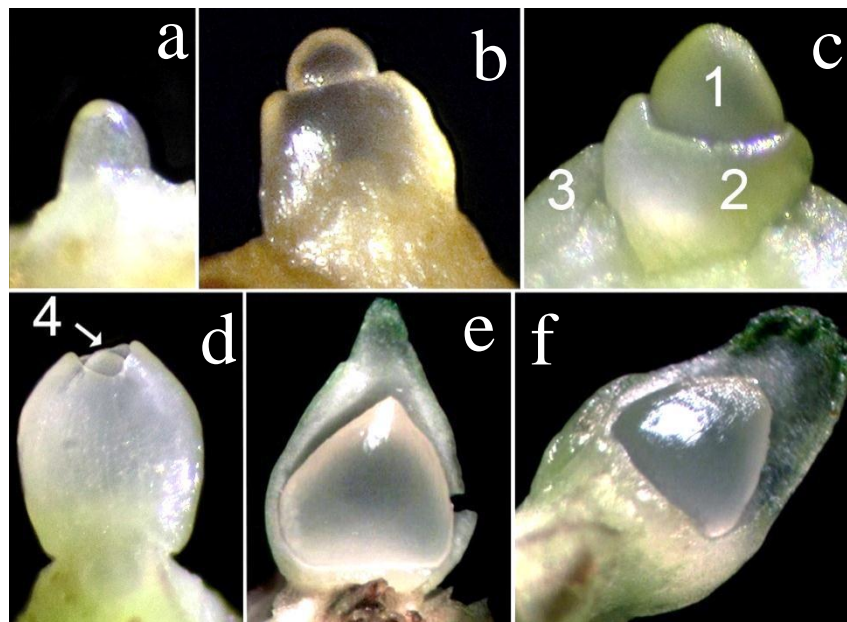
U martu 2012. godine prosečna mesečna temperatura bila je za nekoliko stepeni viša nego u 2010. i 2011. godini, što je imalo za posledicu ranije kretanje vegetacije i raniji početak i završetak prolećnih faza formiranja ženskih cvetova u 2012. godini u odnosu na prethodne dve godine.

#### **7.2.5. Makrosporogeneza i makrogametogeneza**

U sve tri godine istraživanja redosled pojedinih etapa u procesu makrosporogeneze i makrogametogeneze bio je kod svih genotipova istovetan. Razlike su bile ispoljene u vremenu početka i dinamici ovih procesa i one su bile u skladu sa genotipskim specifičnostima i temperaturnim uslovima koji su se manifestovali u završnim fazama procesa morfogeneze ženskog cveta. Karakteristične etape procesa makrosporogeneze, a naročito procesa makrogametogeneze, traju suviše kratko, najčešće samo 1-2 dana, tako da na ograničenom broju histoloških preparata nije bilo moguće dovoljno precizno utvrditi stvarne razlike u dinamici ovih procesa između genotipova. Iz tog razloga, dinamika makrosporogeneze i makrogametogeneze biće prikazana kao opšti model, zasnovan na prosečnom stanju karakterističnih tkiva i ćelija u semenom zametku i makrogametofitu, koji se bazira na ranije prikazanom modelu dinamike morfogeneze ženskog cveta (Grafikon 17).

Makrosporogeneza i makrogametogeneza dešavaju se u semenom zametku. Primordija semenog zametka pojavljuje se kada začeci ženskih cvetova imaju prečnik oko 0,8-1,2 mm. U tom momentu vrhovi primordija karpela dostižu visinu involukruma i dodiruju primordije čašičnih listića. Primordija semenog zametka u početku predstavlja kvržičastu tvorevinu izgrađenu od pronucelarnog tkiva, čije su ćelije

meristemske, jednojedarne, zaobljenih ivica i izdužene u radijalnom pravcu (Slika 16 – a i 17 – a). U ranim stadijumima razvija nucelusa ćelije u njegovoj unutrašnjosti dele se većinom antiklinalno, a kasnije se rast nucelusa ostvaruje deobom ćelija u svim pravcima. Još pre inicijacije integumenta, na površini primordije nucelusa diferencira se kompaktan sloj epidermisa, koji se sastoji od zbijenih, ujednačenih ćelija, pravouglih kontura.



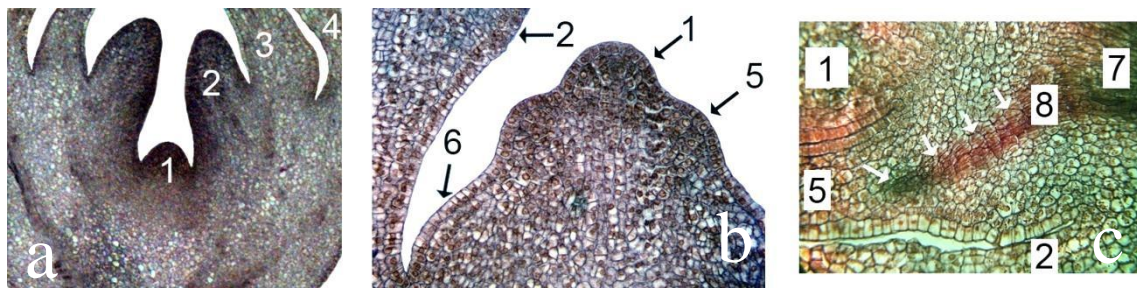
**Slika 16.** Karakteristične faze u formiranju semenog zametka oraha: a) pojava primordije nucelusa; b) nucelus dostigao 10-15% konačne visine; c) nucelus dostigao 50-60% konačne visine; d) integument dostigao vrh nucelusa; e) i f) integument nadrastao nucelus. 1 – nucelus; 2 – integument; 3 – tkivo krilastih izraštaja.

Kada primordija nucelusa dostigne dužinu oko 0,05 mm, što predstavlja približno 10% dužine potpuno formiranog nucelusa, u njegovoj osnovi obrazuje se inicijalno tkivo integumenta, koje se sastoji od meristemskih ćelija i nalazi se ispod već diferenciranog epidermisa, koji pokriva nucelus i izdignuti deo placentae na kojem se razvija semeni zametak (Slika 17 – b). Rast nucelusa praćen je rastom integumenta, tako što se integument postepeno izdiže prema vrhu nucelusa, obavijajući ga (Slika 16 – b i c). Rast integumenta je posledica pretežno antiklinalnih deoba ćelija. Ćelije integumenta zadržavaju meristemske odlike do završetka procesa makrogametogeneze. Iako se integument formira kasnije nego nucelus, rast integumenta je brži, tako da u vreme kada



režnjevi žigova međusobno grade prav ugao, integument u većini slučajeva uspeva da potpuno prekrije nucelus, obrazujući na vrhu semenog zametka relativno širok mikropilarni otvor (Slika 16 – d). Rast integumenta se nastavlja i posle cvetanja, tako da on u kasnijim fazama razvoja ženskog cveta značajno nadvisuje nucelus (Slika 16 – e i f).

Približno u vreme kada integument dostigne polovinu svoje konačne visine, od placente prema osnovi semenog zametka počinju da prorastaju snopići prokambijumskih ćelija, od kojih će se kasnije obrazovati elementi provodnog tkiva. Provodni snopići koji idu iz placente prema semenom zametku pre oplođenja slabo su razvijeni i ne dosežu dalje od osnove integumenta (Slika 17 – c).

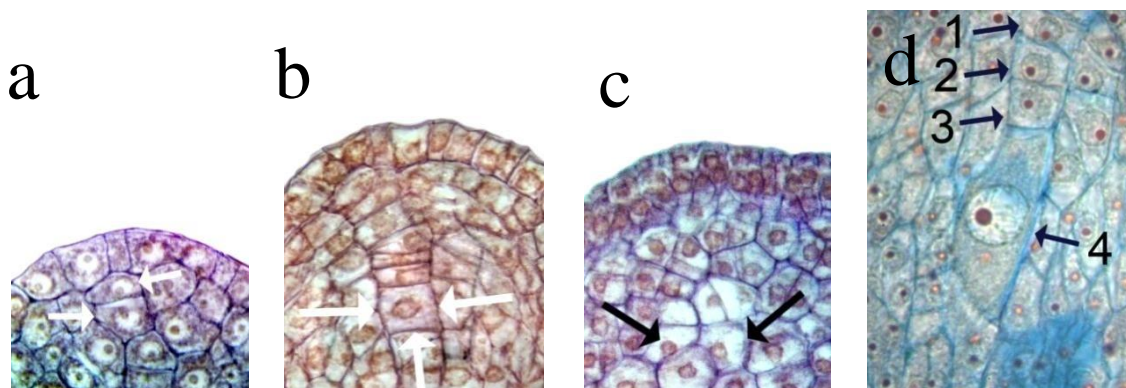


**Slika 17.** Uzdužni preseći semenih zametaka oraha u ranim fazama razvitka: a) inicijacija semenog zametka; b) začetak semenog zametka sa iniciranim integumentom i krilastim izraštajima; c) formiranje provodnog snopića semenog zametka. 1 – začetak nucelusa; 2 – začetak karpele; 3 – začetak čašičnog listića; 4 – začetak involukruma; 5 – začetak integumenta; 6 – inicijalno tkivo krilastih izraštaja; 7 – provodni snopić semenog zametka; 8 – prokambijumsko tkivo od kojeg će se formirati provodni sudovi integumenta.

Već u ranim fazama razvoja nucelusa, u njegovoj subepidermalnoj regiji formiraju se arhesporijalne ćelije. Vreme formiranja arhesporijalnog tkiva u nucelusu oraha približno se poklapa sa vremenom inicijacije integumenta. Kod budućih arhesporijalnih ćelija najpre dolazi do smanjenja njihove mitotičke aktivnosti, što se manifestuje zaostajanjem njihovog tempa deljenja za ostalim ćelijama u njihovoj okolini i narušavanjem pravilnosti nizova ćelija u vršnom delu primordije nucelusa. U velikom broju slučajeva ovako poremećeni nizovi ćelija mogu da posluže kao prvi znak početka procesa diferencijacije meristemskih ćelija nucelusa u materinsku ćeliju makrospore.

Pored toga, ove ćelije počinju da se razlikuju od ostalih ćelija nucelusa po svojim većim dimenzijama.

Arhesporijum oraha najčešće čini jedna ćelija, ali se nekada na preparatima može uočiti i više njih, od kojih se većina vremenom razgradi i resorbuje. Arhesporijalne ćelije su u momentu pojave udaljene 4-7 redova ćelija od epidermisa nucelusa. Pošto meristemske ćelije nucelusa oko njih nastavljaju sa deobom, arhesporijalne ćelije vremenom često bivaju potisnute u dublje slojeve nucelusa. Pored toga što su krupnije i imaju veće jedro, arhesporijalne ćelije se na obojenim preparatima razlikuju od običnih ćelija nucelusa po tome što imaju gušću citoplazmu. Kod krasinucelatnih semenih zametaka, kakav je karakterističan za orah, arhesporijalna ćelija se deli periklinalno, dajući prema spolja parijetalnu ćeliju, a prema unutra primarnu sporogenu ćeliju, koja predstavlja materinsku ćeliju makrospore (makrosporocitu) (Slika 18 – a i b). Parijetalna ćelija nastavlja da se deli periklinalno i antiklinalno, potiskujući primarnu sporogenu ćeliju u dublje slojeve nucelusa.



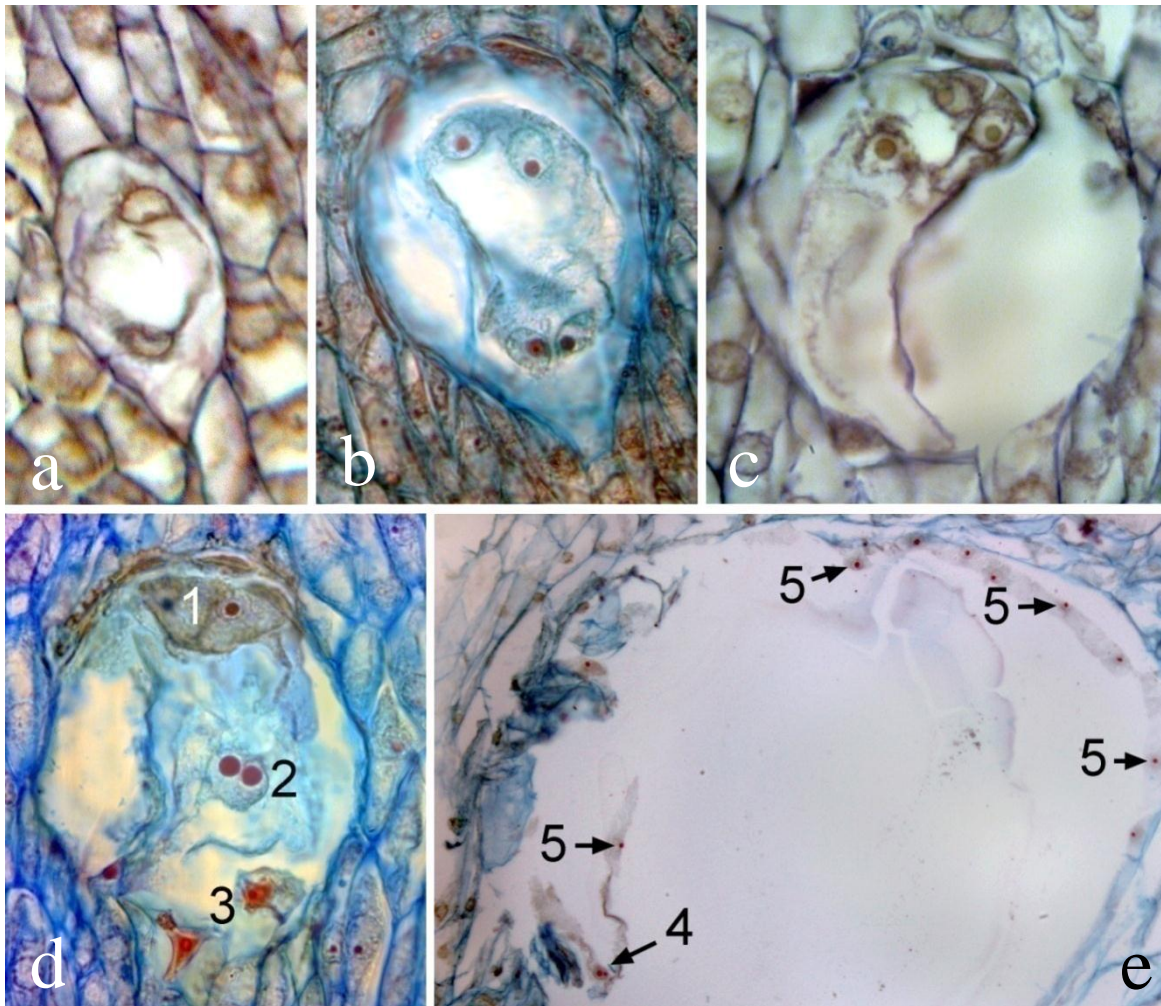
**Slika 18.** Makrosporigeneza oraha: a) parijetalna i primarna sporogena ćelija, nastale periklinalnom deobom arhesporijalne ćelije; b) materinska ćelija makrospore; c) višćelijski arhesporijum; d) makrospora (4), iznad koje se nalaze linearno poredane tri nefunkcionalne tetrade (1, 2, i 3).

Na oko šest do osam dana pre otvaranja ženskog cveta, makrosporocite započinju mejozu. Usled kontinuiranog rasta one prevazilaze razmere prvobitnih arhesporijalnih ćelija, a u poređenju sa ćelijama nucelusa zapremina im može biti višestruko veća. Iako je na nekim preparatima uočena pojava višćelijskog arhesporijuma (Slika 18 – c), kod oraha po pravilu samo jedna makrosporocita nastavlja razvoj, tako da je broj semenih

zametak sa više od jedne makrosporocite obično mali, usled rane degeneracije suvišnih. Početak mejoze u makrosporocitama najpre se manifestuje povećanjem zapremine jedra, koje po pravilu zauzima središnju poziciju u ćeliji, i pojavom hromatinskih granula u njemu. Na osnovu jasnije vidljivosti hromozoma, koja je posledica njihove jače spiralizacije u pahitenu, na pojedinim preparatima bilo je moguće determinisati završne sekvence profaze I. Kao proizvod mejotičkih deoba makrosporocite, nastaju četiri ćelije (tetrade), koje predstavljaju makrospore. Na histološkim preparatima makrospore su uvek bile poređane linearno, jedna iznad druge, paralelno sa osom semenog zametka. Pojava makrospora obično je bila vidljiva 4-6 dana pre otvaranja cvetova. U tom momentu u osnovi nucelusa iniciran je prsten integumenta i započet je njegov rast u visinu, dok se primordije krilastih izraštaja tek pojavljuju u vidu malih ispupčenja (Slika 17 – b).

Četiri formirane makrospore u svom daljem razvoju ne doživljavaju istu sudbinu. Dve središnje makrospore u nizu ubrzo počinju da atrofiraju, što se manifestuje zaostajanjem u rastu, degeneracijom i postepenim nestajanjem. Na histološkim preparatima one najčešće imaju karakterističan spljošten ili srpast izgled sa sitnim jedrom u sredini. Makrospora koja je najbliža mikropili takođe atrofira, ali se to kod nje dešava sporije, tako da ona dostiže nešto veće dimenzije od prethodne dve. Pre nego što se potpuno degeneriše, ona još neko vreme zadržava normalan oblik i sa relativno krupnim jedrom podseća na okolne ćelije nucelusa. U nekim slučajevima tri nefunkcionalne makrospore dugo zadržavaju svoj normalan oblik pre nego što dođe do njihove degeneracije, kao što se vidi na Slici 18 – d. Makrospora koja je najbliža halazi po pravilu predstavlja funkcionalnu makrosporu. Posle kraćeg perioda intenzivnog rasta, u njoj dolazi do pojačane vakuolizacije na oba kraja ćelije, dok se citoplazma koncentriše u središnjem delu ćelije okružujući veoma krupno jedro. Unutar jedra jasno je uočljivo krupno jedarce. Funkcionalna makrospora je obično smeštena duboko u nucelusu, pokrivena sa oko sedam do deset slojeva ćelija (Slika 18 – d).

Neposredno pred otvaranje ženskog cveta, makrospora ulazi u prvu mitotičku deobu, tako da su na početku cvetanja od većine makrospora već obrazovane dvojedarne embrionove kesice (Slika 19 – a). Tada režnjevi žigova počinju da se razmiču, vrh integumenta dostiže oko 60-70% visine nucelusa, a vrhovi krilastih izraštaja dostižu približno visinu osnove nucelusa.



**Slika 19.** Formiranje embrionove kesice oraha: a) dvojedarna embrionova kesica; b) četvorojedarna embrionova kesica; c) osmojedarna embrionova kesica; d) zrela embrionova kesica; e) embrionova kesica posle oplodjenja u kojoj se vidi zigot i jedra endosperma. 1 – deo jajnog aparata; 2 – centralna jedra; 3 – antipode; 4 – zigot; 5 – jedra endosperma.

U središtu mlade embrionove kesice stvara se krupna vakuola, koja potiskuje jedra i citoplazmu ka polovima. Između središnje vakuole i ćelijskog zida embrionove kesice zadržava se uska zona citoplazme sve dok se u embrionovoj kesici ne izvrši celularizacija. Svako od jedara embrionove kesice deli se ponovo mitotičkom deobom i na taj način formira se četvorojedarna embrionova kesica (Slika 19 – b). U stadijumu četvorojedarne embrionove kesice vrh integumenta dostiže 70-80% visine nucelusa, reznjevi žigova se nalaze približno pod uglom 30-45°, a vrhovi krilastih izraštaja malo prelaze visinu osnove nucelusa. Posle još jedne mitoze svakog od jedara, nastaje

osmojedarna embrionova kesica, sa po četiri jedra na oba njena pola Slika 19 – c. U ovim jedrima jasno su uočljiva jedarca. U stadijumu osmojedarne embrionove kesice vrh integumenta dostiže 80-90% visine nucelusa.

Nakon završetka mitotičkih deoba jedara embrionove kesice, započinje njeno funkcionalno i citološko organizovanje. Po jedno jedro sa oba pola embrionove kesice premešta se u njenu centralnu zonu. Ova jedra se nazivaju polarna jedra i nakon međusobne fuzije formiraju centralno jedro sa diploidnim brojem hromozoma. Na histološkim preparatima nije bilo primera stapanja polarnih jedara do kraja procesa makrogametogeneze, već je konstatovano samo njihovo međusobno zblizavanje (Slika 19 - d).

Oko jedara koja ostaju na polovima počinje da se koncentriše preostali deo citoplazme i postepeno se formira ćelijska membrana. Na taj način dolazi do celularizacije embrionove kesice i to najpre na halaznom kraju gde se formiraju tri sitne antipode. Tek formirane antipode imaju trouglastu formu i na presecima pokazuju delimičnu vakuolizaciju citoplazme. U toku daljeg toka makrogametogeneze one podležu procesima degeneracije, što dovodi do njihovog postepenog smanjivanja i deformisanja. Na najvećem broju histoloških preseka zrelih embrionovih kesica antipode se uočavaju samo kao tamne trouglaste mrlje, što navodi na zaključak da su degenerativni procesi kod njih već neko vreme u toku.

Na mikropilarnom kraju embrionove kesice nastaje jajni aparat, kojeg čine dve sinergide i jedna jajna ćelija. Na manjem broju histoloških preparata bile su delimično uočljive konture sinergida i jajne ćelije (Slika 19 - d), dok je u većini slučajeva bilo moguće samo razlikovati jedro jajne ćelije od jedara sinergida na osnovu njihovog izgleda i položaja.

Polarna jedra iz centra embrionove kesice sa okolnom citoplazmom i nekoliko krupnih vakuola, lociranih u donjoj polovini embrionove kesice, obrazuju centralnu ćeliju, koja se prostire od antipoda do jajnog aparata. Njena dva jedra sa većim delom citoplazme postepeno se premeštaju prema mikropilarnom delu, tako da u potpuno formiranom ženskom gametofitu zauzimaju poziciju neposredno ispod jajnog aparata. U stadijumu zrele embrionove kesice vrh integumenta dostiže visinu vrha nucelusa ili ga malo premašuje, žigovi imaju izgled lukova, sa vrhovima okrenutim na dole, a vrhovi krilastih izraštaja nalaze se blizu nivoa embrionove kesice. Na nekim

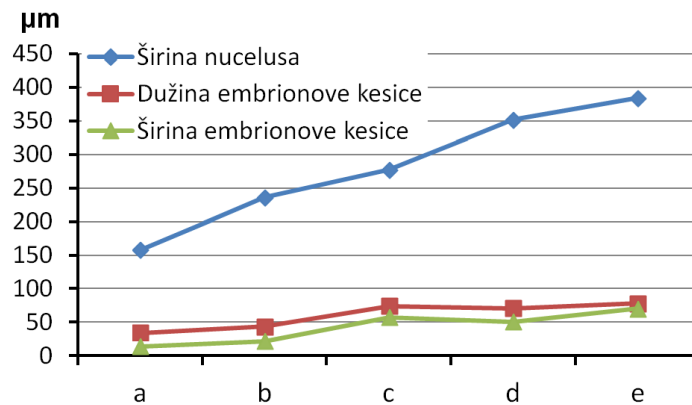
histološkim preparatima u embrionovim kesicama bili su vidljivi zigot i novoformirana jedra endosperma (Slika 19 – e).

Na uzdužnim histološkim presecima semenog zametka izvedenim u medijalnoj ravni embrionova kesica oraha u dvojedarnom stadijumu ima vretenast oblik, u četvorojedarnom stadijumu je srcasta (mikropilarni kraj je proširen, a halazni sužen), dok je potpuno formirana embrionova kesica okruglastosrcastog oblika, širim krajem okrenuta prema mikropili, a užim ka halazi.

**Tabela 11.** Dimenzije nucelusa i embrionove kesice i položaj embrionove kesice u tkivu nucelusa u različitim stadijumima razvoja.

Stadijumi razvoja	Širina nucelusa (µm)	Dužina embrionove kesice (µm)	Širina embrionove kesice (µm)	Udaljenost makrospore/embrionove kesice (slojevi ćelija)	
				Od vrha nucelusa	Od bočnih strana nucelusa
Makrospora	157,7 ± 7,7	34,2 ± 3,8	13,7 ± 0,9	7,7 ± 0,4	9,1 ± 0,6
Dvojedarna embr. kesica	236,0 ± 36,7	43,4 ± 2,8	21,3 ± 2,6	8,5 ± 0,3	10,0 ± 0,8
Četvorojedarna embr. kesica	277,3 ± 21,9	74,0 ± 5,0	56,7 ± 3,0	8,8 ± 0,4	10,3 ± 0,6
Osmojedarna embr. kesica	352,0 ± 21,1	70,3 ± 1,2	50,4 ± 0,9	9,0 ± 0,6	10,5 ± 0,9
Zrela embrionova kesica	384,4 ± 32,5	78,0 ± 8,1	70,0 ± 11,8	8,6 ± 0,7	10,7 ± 1,4

U toku procesa makrogametogeneze embrionova kesica raste vrlo intenzivno u dužinu i u širinu. Dužina makrospore iznosila je prosečno 34,2 µm, a zrele embrionove kesice 78 µm (Tabela 11). Širina makrospore bila je 13,7 µm, a zrele embrionove kesice 70 µm. To znači da se za svega nekoliko dana dužina embrionove kesice povećala oko 2,3 puta, a širina oko 5,1 put. Porast embrionove kesice u funkciji vremena bio je skoro linearan (Grafikon 18). Razlike u veličini embrionove kesice između genotipova i po godinama nisu bile značajne.



**Grafikon 18.** Dinamika rasta nucelusa i embrionove kesice u toku procesa makrogametogeneze. Faze makrogametogeneze: a) jednojedarni stadijum embrionove kesice; b) dvojedarni stadijum; c) četvorojedarni stadijum; d) osmojedarni stadijum; e) embrionova kesica u fenofazi precvetavanja ženskih cvetova.

U stadijumu makrospore širina nucelusa iznosila je prosečno 157,7 µm, a u stadijumu osmojedarne embrionove kesice 352 µm, što predstavlja povećanje za više od 2,2 puta (Tabela 11). Makrospora je bila udaljena prosečno 7,7-9,1 sloj ćelija od površine nucelusa, dvojedarna embrionova kesica 8,5-10 slojeva, četvorojedarna embrionova kesica 8,8-10,3 sloja, osmojedarna embrionova kesica 9-10,5 slojeva, a zrela embrionova kesica 8,6-10,7 slojeva. Iz Grafikona 18 može se zaključiti da je porast nucelusa u toku makrogametogeneze bio gotovo linearan, a da je broj slojeva ćelija u njemu za isto vreme bio povećan svega za oko 15-18%.

## 7.3. Morfološke karakteristike muških reproduktivnih organa

### 7.3.1. Građa resa

Muška cvast oraha, resa, sastoji se iz osovine cvasti, na kojoj su u spiralnom rasporedu poređani muški cvetovi (Slika 20 – a, b i c).

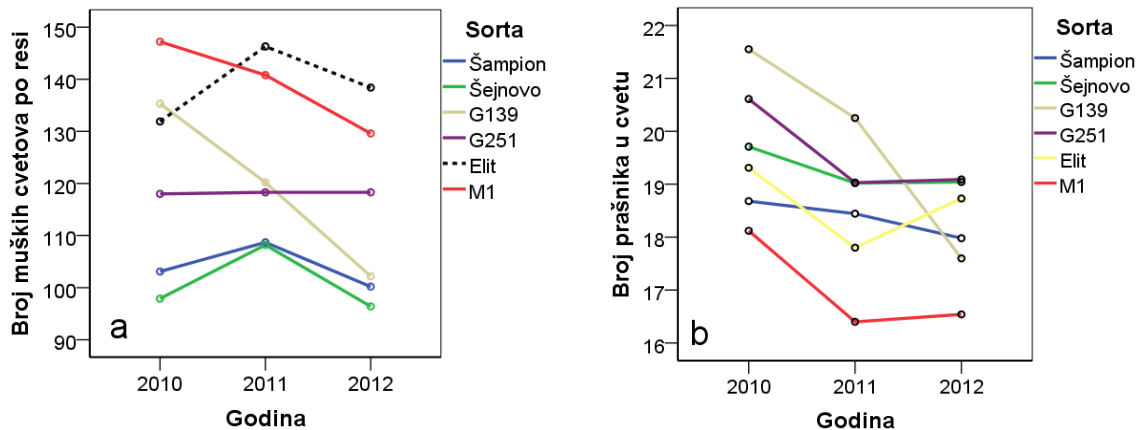
Ukupan prosečan broj cvetova po resi u trogodišnjem periodu ispitivanja iznosio je 120,1. Najmanji broj cvetova po resi bio je 56, a najveći 162. Na ovaj parametar vrlo visoko značajan uticaj imali su genotip, godina i interakcija genotip × godina (Tabela 12).

**Tabela 12.** Broj muških cvetova po resi i broj prašnika u cvetu.

Faktor	Nivoi faktora	Broj muških cvetova po resi	Broj prašnika u cvetu
Genotip (A)	Šampion	104,0 ± 2,08 a	18,4 ± 0,27 b
	Šejново	100,8 ± 1,91 a	19,3 ± 0,19 bc
	G139	119,2 ± 3,22 b	19,8 ± 0,46 c
	G251	118,2 ± 1,76 b	19,6 ± 0,19 c
	Elit	138,9 ± 1,97 c	18,6 ± 0,19 b
	M1	139,2 ± 2,29 c	17,0 ± 0,24 a
Godina (B)	2010	122,2 ± 2,81 b	19,7 ± 0,21 b
	2011	123,7 ± 2,22 b	18,5 ± 0,25 a
	2012	114,2 ± 2,29 a	18,2 ± 0,16 a
Ukupni prosek		120,1 ± 1,44	18,8 ± 0,13
ANOVA			
A		***	***
B		***	***
A × B		***	***

Pored navedenih faktora, utvrđeno je da su značajan uticaj na broj cvetova po resi imali dužina grančice i položaj rese na grančici, ali rezultati ovih istraživanja nisu prikazani u ovom radu. Najveći broj cvetova po resi imali su sejanac M1 (139,2) i sorta Elit (138,9), dok je najmanji broj cvetova po resi utvrđen kod sorti Šejново (100,8) i Šampion (104). Najmanji broj cvetova po resi utvrđen je u 2012. godini (114,2). U 2010. godini prosečan broj cvetova po resi bio je 122,2, a u 2011. godini 123,7, ali ove razlike nisu bile značajne. Kod sorti Elit, Šampion i Šejново najveći broj cvetova po resi utvrđen je u 2011. godini, dok su kod sorte G139 i sejanca M1 rese imale najviše cvetova u 2010. godini (Grafikon 19 – a). Na broj cvetova po resi kod sorte G251 godina nije značajno uticala. Između prosečne trogodišnje vrednosti broja cvetova po resi i prosečnog vremena listanja genotipova u 2010, 2011. i 2012. godini izraženog kao broj dana od datuma punog resanja sorte Šejново, utvrđena je jaka pozitivna korelacija ( $r = 0,79^{**}$ ).



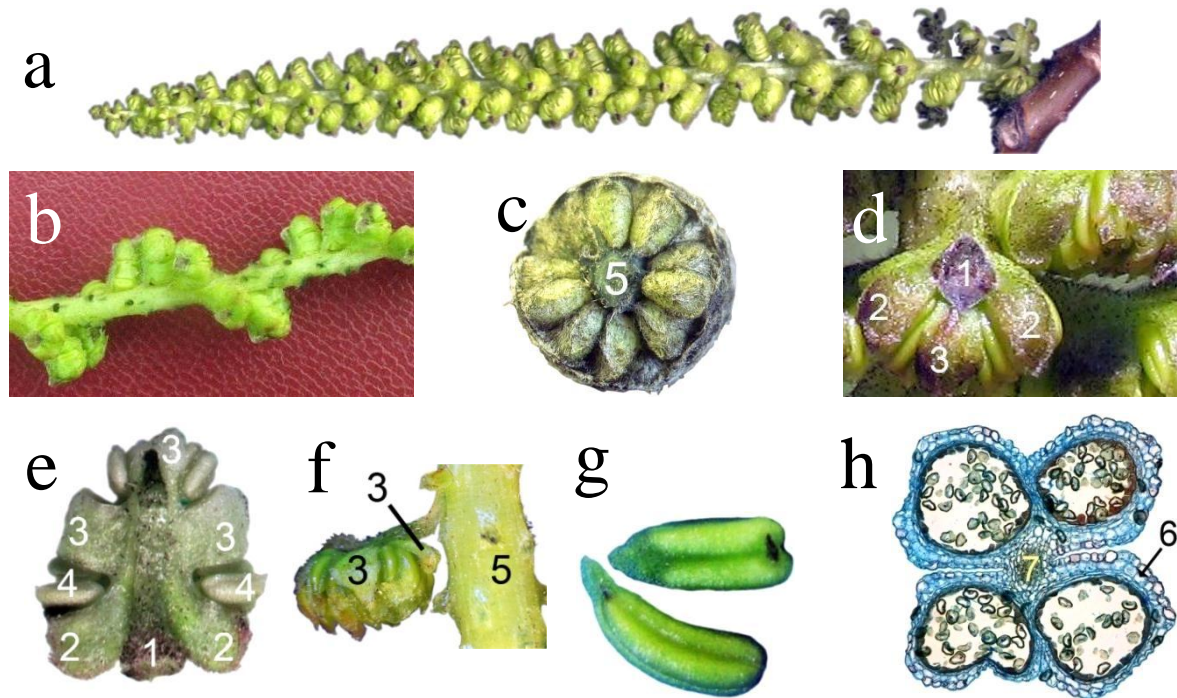


**Grafikon 19.** Uticaj interakcije genotip × godina na broj muških cvetova po resi (a) i na broj prašnika u cvetu (b).

### 7.3.2. Građa muških cvetova

Pojedinačni muški cvetovi oraha su sitni, neugledni, bez kruničnih listića, sa četiri zelena čašična listića koji grade perijant. Sa spoljašnje strane perijanta nalaze se dve maljave brakteole i jedna brakteja, a sa unutrašnje strane perijanta gusto su raspoređeni prašnici (Slika 20 – d, e i f).

Od osnove rese prema njenom vrhu smanjuje se broj prašnika u cvetovima. U cvetovima koji se nalaze na vrhu rese često je bilo samo 2-3 prašnika, dok su cvetovi u osnovi rese sadržali do 25 prašnika. U ovom radu utvrđivanje broja prašnika u cvetu vršeno je na cvetovima koji se nalaze na sredini rese. Ukupan prosečan broj prašnika u tim cvetovima iznosio je 18,8. Na ovaj parametar vrlo visoko značajan uticaj imali su godina, genotip i interakcija genotip × godina (Tabela 12). Najveći prosečan broj prašnika po cvetu utvrđen je kod sorti G139 (19,8) i G251 (19,6), a najmanji kod sejanca M1 (17). Prosečan broj prašnika po cvetu u 2010. godini iznosio je 19,7; u 2011. godini bio je manji za 1,2 prašnika; a u 2012. godini prosečan broj prašnika po cvetu iznosio je 18,2. Razlika u broju prašnika po cvetu u 2011. i 2012. godini nije bila značajna. Kod sejanca M1 i sorti G251, Šejново i Elit najmanji broj prašnika po cvetu bio je u 2011. godini, dok su cvetovi sorti G139 i Šampion imali najmanji broj prašnika u 2012. godini (Grafikon 21 – b). U 2010. godini cvetovi sorte G139 sadržali su najviše prašnika, a u 2012. godini broj prašnika u njihovim cvetovima bio je veći jedino u odnosu na sejanac M1.



**Slika 20.** Morfološke karakteristike resa i muških cvetova oraha: a) resa u prirodnoj veličini na početku prašenja; b) spiralno raspoređeni muški cvetovi na osovini rese; c) izgled poprečno presečene nerazvijene rese; d) izgled muškog cveta sa spoljne strane cvasti; e) izgled muškog cveta sa gornje strane; f) izgled muškog cveta sa bočne strane; g) prašnici; h) poprečni presek zrele antere. 1 – brakteja; 2 – brakteola; 3 – čašični listić; 4 – prašnik; 5 – osovina cvasti; 6 – polenova kesica; 7 – konektiv.

Prašnici imaju vrlo kratke filamente (1-2 mm), tako da antere izgledaju kao da su direktno pričvršćene za cvet (Slika 20 – g). Antere se sastoje od dve poluantere, koje su međusobno razdvojene konektivom. Konektiv je izgrađen od sprovodnog snopića i parenhimskog tkiva. Svaka poluantera sadrži po dve polenove kesice, u kojima se stvara polen (Slika 20 – g i h).

### 7.3.3. Morfometrija resa i antera

Ukupna prosečna dužina resa u vreme resanja iznosila je 120 mm. Na dužinu resa vrlo visoko značajan uticaj imali su godina i genotip, kao i interakcija ova dva faktora. Najveća prosečna dužina resa utvrđena je kod sorte Elit (150,8 mm), a najmanja kod sorti Šejnovo i Šampion (oko 85 mm) (Tabela 13). U 2012. godini prosečna dužina resa iznosila je 104,4 mm i bila je manja za 23,1 mm nego u 2010. godini, a za 23,6 mm

manja nego u 2011. godini. Razlika u dužini resa u 2010. i 2011. godini nije bila značajna.

**Tabela 13.** Dužina i širina resa, dužina, širina i debljina antera (mm).

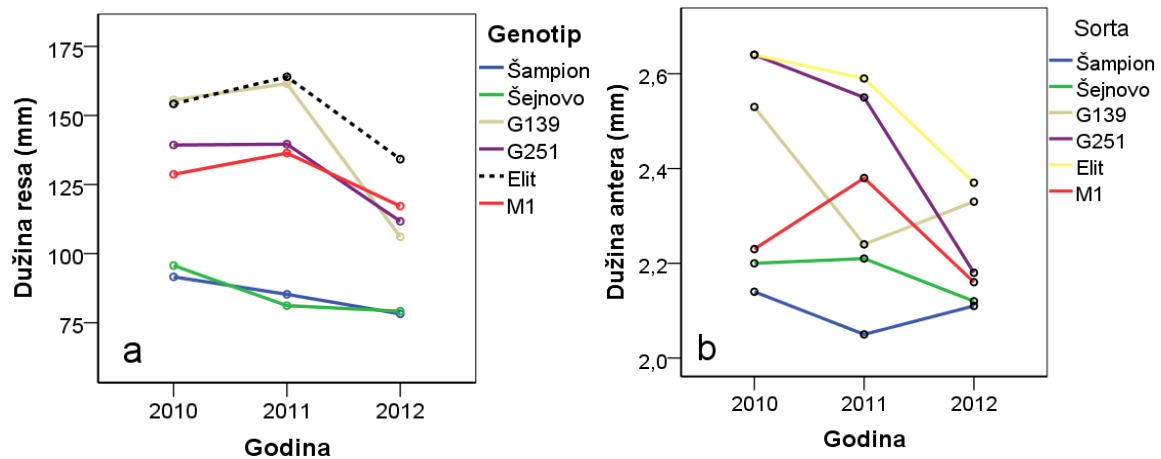
Faktor	Nivoi faktora	Dužina resa	Širina resa	Dužina antera	Širina antera	Debljina antera
Genotip (A)	Šampion	85,0±1,83 a	4,3±0,17 a	2,10±0,03 a	0,98±0,01 bc	0,75±0,01 ab
	Šejново	85,4±2,45 a	14,6±0,23 a	2,18±0,02 ab	0,92±0,02 a	0,71±0,01 a
	G139	141,1±4,98 c	14,9±0,29 a	2,37±0,04 cd	1,02±0,02 bc	0,79±0,01 b
	G251	130,2±3,44 b	14,8±0,20 a	2,46±0,05 de	0,92±0,02 a	0,71±0,01 a
	Elit	150,8±3,68 d	14,9±0,21 a	2,53±0,04 e	0,98±0,02 abc	0,78±0,01 b
	M1	127,4±2,64 b	14,5±0,16 a	2,26±0,03 b	0,93±0,02 ab	0,75±0,01 ab
Godina (B)	2010	127,5±3,79 b	15,2±0,15 b	2,40±0,03 b	0,98±0,01 b	0,76±0,01 b
	2011	128,0±4,62 b	14,9±0,13 b	2,34±0,03 b	0,99±0,01 b	0,77±0,01 b
	2012	104,4±2,86 a	13,9±0,12 a	2,21±0,02 a	0,91±0,01 a	0,71±0,01 a
Ukupni prosek		120,0±2,34	14,7±0,09	2,31±0,02	0,96±0,01	0,75±0,01
A		***	NZ	***	***	***
B		***	***	***	***	***
A × B		***	NZ	***	NZ	NZ

Kod sorti Šejново i Šampion najveća dužina resa utvrđena je u 2010. godini, dok su kod ostalih genotipova najduže rese bile u 2011. godini. Kod sorte G139 dužina resa u 2010. i 2011. godini bila je uz sortu Elit veća nego kod sorti G251 i sejanca M1, dok je u 2012. godini dužina resa kod sorte G139 bila manja nego kod sorti Elit i G251 i sejanca M1 (Grafikon 20 – a). Između prosečne trogodišnje vrednosti dužine resa i vremena punog resanja genotipova izraženog kao broj dana od datuma punog resanja sorte Šejново utvrđena je jaka pozitivna korelacija ( $r = 0,82^{**}$ ).

Ukupna prosečna širina resa u vreme punog resanja iznosila je 14,7 mm. Na širinu resa vrlo visoko značajan uticaj ispoljila je godina, dok uticaj genotipa i interakcije genotip × godina nije bio značajan (Tabela 13). Širina resa u 2010. i 2011. godini iznosila je oko 15 mm i bila je za oko jedan milimetar veća nego u 2012. godini.

Ukupna prosečna dužina antera iznosila je 2,31 mm. Na ovaj parametar vrlo visoko značajan uticaj ispoljili su godina, genotip i interakcija genotip × godina (Tabela 13). Najveću prosečnu dužinu antera imala je sorta Elit (2,53 mm), a najmanju sorta

Šampion (2,10 mm). Najmanja prosečna dužina antera utvrđena je u 2012. godini (2,21 mm), dok je njihova prosečna dužina u 2010. godini iznosila 2,4 mm, a u 2011. godini 2,34 mm. Razlika u veličini ovog parametra između 2010. i 2011. godine nije bila značajna. Kod sorti Elit i G251, G139 i Šampion najveća dužina antera utvrđena je u 2010. godini (Grafikon 20 – b). Nasuprot sorti Šejnovno i sejancu M1, kod kojih je u 2011. godini dužina antera bila veća nego u ostale dve godine, kod sorti G139 i Šampion veličina ovog parametra u 2011. godini bila je najmanja u trogodišnjem periodu ispitivanja. Između dužine antera i dužine resa utvrđena je jaka pozitivna korelacija ( $r = 0,83^{**}$ ), dok je između dužine antera i vremena resanja korelacija bila srednje jaka ( $r = 0,65^{**}$ ).



**Grafikon 20.** Uticaj interakcije genotip × godina na dužinu resa (a) i dužinu antera (b).

Ukupna prosečna širina antera iznosila je 0,96 mm. Na ovaj parametar vrlo visoko značajan uticaj imali su godina i genotip, dok uticaj interakcije genotip × godina nije bio značajan (Tabela 13). Najveću širinu antera imala je sorta G139 (1,02 mm), a najmanju sorte Šejnovno i G251, kod kojih je ona iznosila 0,92 mm. U 2012. godini širina antera iznosila je 0,91 mm i bila je za 0,07 mm manja nego u 2010. godini i za 0,08 mm manja nego u 2011. godini. Razlika u širini antera između 2010. i 2011. godine nije bila značajna. Između širine antera i dužine antera utvrđena je slaba pozitivna korelacija ( $r = 0,30^{**}$ ).

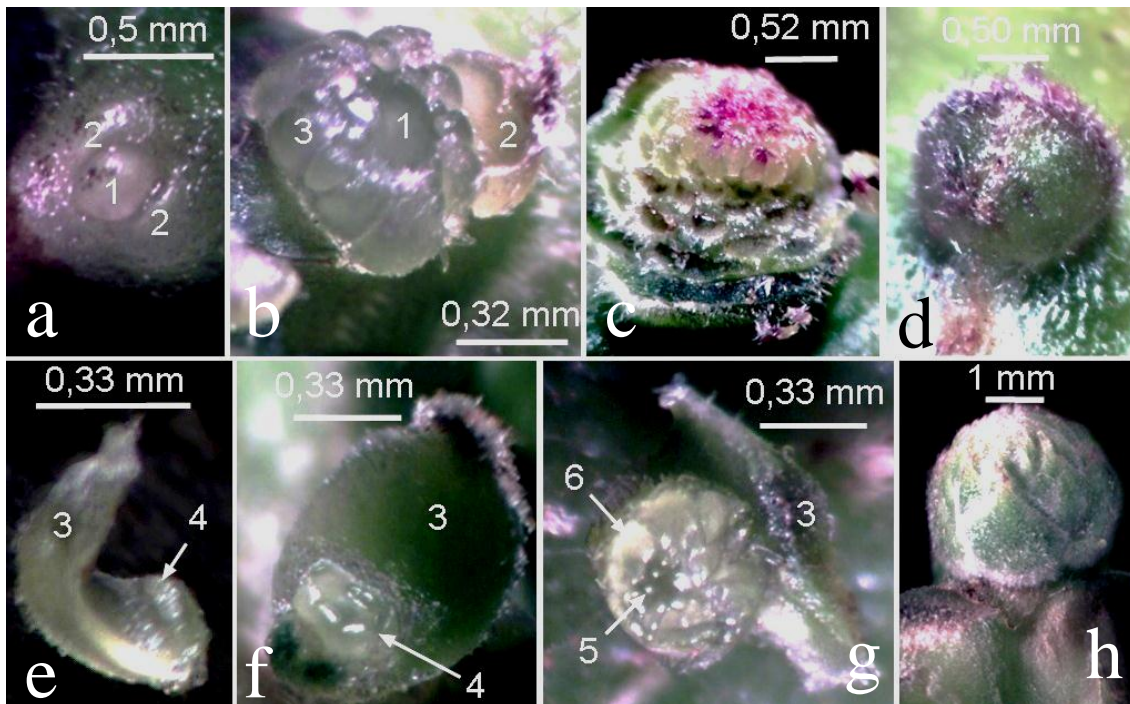
Ukupna prosečna debljina antera iznosila je 0,75 mm. Na debljinu antera vrlo visoko značajan uticaj ispoljili su genotip i godina, dok uticaj interakcije genotip ×

godina nije bio značajan (Tabela 13). Najveća debljina antera utvrđena je kod sorti G139 (0,79 mm) i Elit (0,78 mm), a najmanja kod sorti Šejnovo i G251, kod kojih je ona iznosila 0,71 mm. U 2012. godini debljina antera iznosila je 0,71 mm i bila je za 0,05 mm manja nego u 2010. godini, a za 0,06 mm manja nego u 2011. Između debljine antera i širine antera utvrđena je jaka pozitivna korelacija ( $r = 0,89^{**}$ ), dok je između debljine antera i dužine antera korelacija bila slaba ( $r = 0,12^{**}$ ).

#### 7.3.4. Morfogeneza resa i muških cvetova

Oko 7-8 dana posle otvaranja pupoljaka u pazuhu listova mladara koji se iz ovih pupoljaka razvijaju vrši se inicijacija apikalnog meristema resa (Slika 21 – a). U tom momentu začeci resa dosta podsećaju na začetke vegetativnih pupoljaka. Pojava primordija brakteja na začetku osovine rese predstavlja prvi jasan vizuelni znak koji ukazuje da se radi o budućoj muškoj cvasti, a ne o vegetativnom pupoljku. U tom momentu začetak osovine rese ima oblik poluloptastog ispupčenja, a prečnik začetka rese, zajedno sa zaštitnim listićima iznosi 0,5-0,8 mm (Slika 21 – b). Inicijacija brakteja vrši se u koncentričnim krugovima, od periferije začetka osovine rese prema njegovom centru (Slika 21 – c). U svim godinama istraživanja, primordije brakteja uočene su najpre kod sorte Šejnovo, a par dana kasnije kod sorte Šampion i sejanca M1 (Grafikon 21). Kod navedenih sorti inicijacija brakteja počinje obično u drugoj dekadi aprila. Primordije brakteja najkasnije se pojavljuju kod sorte Elit i to najčešće u prvoj dekadi maja. U ovoj fazi razvitka začeci resa brzo rastu i za jednu nedelju prečnik im se poveća skoro duplo, a broj primordija brakteja za 10-15. U vreme kada je u začecima resa iniciran konačan broj brakteja, začeci resa imaju prečnik oko 1-1.4 mm. Brakteje u vršnom delu osovine rese tada su još male i ne vide se ispod zaštitnih listića rese, tako da začeci resa i dalje liče na vegetativni pupoljak (Slika 21 – d).

Dok se vrši inicijacija brakteja u gornjem delu začetka osovine rese, u osnovi najstarijih primordija brakteja pojavljuje se malo elipsasto ispupčenje koje predstavlja začetak osovine muškog cveta (Slika 21 – e). Istovremeno dok primordija brakteje intenzivno raste, začetak osovine muškog cveta proširuje se i postepeno mu obod dobija kružan oblik. Za nekoliko dana na njegovom obodu pojavljuju se dve primordije brakteola i četiri primordije čašičnih listića (Slika 21 – f).



**Slika 21.** Rane faze razvitka rese i muškog cveta : a) pojava začetka apikalnog meristema rese; b) začetak rese na kojem je počela inicijacija primordija brakteja; c) začetak rese sa konačnim brojem primordija brakteja (primordije brakteja u donjoj polovini rese su uklonjene); d) spoljašnji izgled začetka rese kada je u njoj obrazovan konačan broj primordija brakteja; e) primordija brakteje sa iniciranom osovinom muškog cveta; f) začetak muškog cveta sa iniciranim primordijama brakteola i čašičnih listića; g) začetak muškog cveta sa vidljivim primordijama prašnika; h) spoljašnji izgled začetka rese u kojem je počela diferencijacija prašnika. 1 – začetak osovine rese; 2 – primordije ljuspastih listića rese; 3 – primordija brakteje; 4 – začetak muškog cveta; 5 – primordija prašnika; 6 – primordija čašičnog listića.

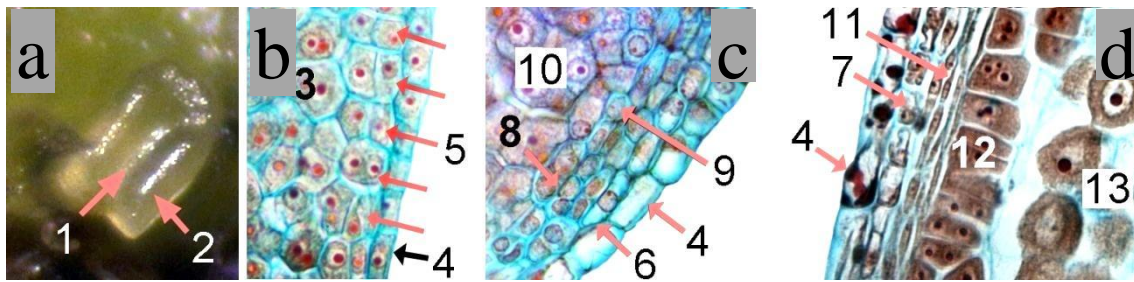
U unutrašnjosti kruga kojeg zatvaraju primordije brakteola i perijanta 2-4 dana posle njihove inicijacije u centripetalnom pravcu počinje diferencijacija začetaka prašnika u vidu bobičastih izraštaja (Slika 21 – g). Primordije prašnika sastoje se od meristemskih ćelija i pokrivene su jednoslojnim epidermisom. Začeci resa u ovom momentu i dalje imaju skoro loptast oblik, ali se na njihovoj gornjoj polovini između i iznad razmaknutih zaštitnih listića rese jasno vide spiralno raspoređene i međusobno tesno priljubljene primordije brakteja (Slika 21 – h).

U toku svog daljeg razvitka slobodni delovi brakteja postaju maljavni i kruti, usled čega površina mlade rese podseća teksturom na površinu šišarke četinarara. Kod sorti Šejново i Šampion začeci prašnika su u 2011. godini bili uočeni već krajem aprila, dok je u 2010. i 2012. godini inicijacija začetaka prašnika usledila tek početkom maja. Nezavisno od sorte, obrazovanje primordija prašnika počinje u začecima cvetova u osnovi mlade rese 3-5 nedelja ranije nego na njenom vrhu. Najkasnija pojava primordija prašnika utvrđena je u cvetovima sorte Elit - pretežno krajem maja.

Kod sorti Šejново i Šampion početak formiranja polenovih kesica u prašnicima cvetova koji su se nalazili u osnovi rese u svim godinama ustanovljen je u prvoj dekadi juna. Antere su u toku maja bile valjkaste, sa zaobljenim vrhom, početkom juna na poprečnom preseku bile su četvorougane, dok su u toku jula na anterama već bila jasno uočljiva četiri režnja, koji nastaju kao posledica razrastanja polenovih kesica (Slika 22 – a).

U svakom od ovih režnjeva izdvaja se grupa hipodermalnih ćelija, koje predstavljaju inicijalno tkivo arhesporijalnih regiona. Ćelije ovih regiona razlikuju se od ćelija okolnog tkiva po tome što su krupnije, imaju izraženija jedra i nešto su izduženije u radijalnom pravcu. Od ovih ćelija formira se arhesporijum, čije ćelije se dele periklinalno, tako da se prema epidermisu obrazuje sloj ćelija primarnog parijetalnog sloja, a prema unutrašnjosti antere primarno sporogeno tkivo. Periklinalnim deobama ćelija primarnog sloja nastaju spoljašnji i unutrašnji sekundarni parijetalni sloj (Slika 22 – b). Aktivnošću ćelija sekundarnih parijetalnih slojeva formira se zid antere. Od ćelija spoljašnjeg sekundarnog parijetalnog sloja nastaju endotecijum i dva spoljašnja međusloja, a od unutrašnjeg sekundarnog parijetalnog sloja obrazuju se unutrašnji međusloj i tapetum (Slika 22 - c).

Još u toku juna kod sorti Šejново i Šampion zidovi antera su višeslojni, a u unutrašnjosti polenovih kesica nalazi se arhesporijalno tkivo. Kod ostalih genotipova tek u toku jula i avgusta uočljive su male promene u obliku antera, ali se konačno formiranje arhesporijalnog tkiva i diferencijacija zida antera na slojeve vrši tek u proleće sledeće godine.



**Slika 22.** Diferencijacija antere: a) spoljašnji izgled antere sorte Šejnovo početkom treće dekade juna; b) diferencijacija sekundarnih parijetalnih slojeva zida antere; c) zid antere u fazi diferencijacije endotecijuma, međuslojeva i tapetuma; d) zid antere sa diferenciranim svim slojevima. 1 – konektiv; 2 – režanj antere sa razraslom polenovom kesicom; 3 – primarna sporogena ćelija; 4 – epidermis; 5 – ćelije nastale periklinalnom deobom ćelija primarnog parijetalnog sloja; 6 – ćelije nastale deobom ćelija spoljašnjeg sekundarnog parijetalnog sloja od kojih će se formirati endotecijum; 7 – endotecijum; 8 – ćelije međusloja; 9 – ćelije unutrašnjeg sekundarnog parijetalnog sloja; 10 – sekundarno sporogeno tkivo; 11 – međusloj; 12 – tapetum; 13 – mikrosporangija sa mikrosporocitama.

Potpuno diferenciran zid antere sastoji se od nekoliko slojeva. Antera je sa spoljašnje strane pokrivena epidermisom, koji je sačinjen od jednog sloja pravilnih četvorougaoih ćelija. U toku rasta antere, ćelije epidermisa se dele antiklinalno, tempom koji prati povećanje njene zapremine. Kod potpuno formiranih antera epidermalne ćelije su dosta zbijene i radijalno izdužene. Ispod epidermisa nalazi se endotecijum, kojeg čini jedan sloj krupnih ćelija, malo izduženih u radijalnom pravcu. Ove ćelije dostižu najveći razvoj u vreme kada su antere spremne za oslobađanje polena. Približavanjem cvetanja, ćelije endotecijuma sazrevaju i u njihovim zidovima stvaraju se vlaknasta zadebljanja, koja se prostiru od unutrašnjeg tangencijalnog zida, prolaze kroz bočne zidove i završavaju se u blizini spoljašnjeg tangencijalnog zida, koji po pravilu ne zadebljava. Ispod endotecijuma nalazi se međusloj, koji se sastoji od 2-3 sloja sitnih parenhimskih ćelija. Međusloj je privremenog karaktera, pošto njegove ćelije bivaju pod pritiskom okolnih tkiva spljoštene i zgnječene u toku mejoze. Tapetum je unutrašnji sloj zida antere, koji se graniči neposredno sa arhesporijumom. Ćelije tapetuma imaju gustu citoplazmu, koja se intenzivno boji, i više krupnih jedara. Ćelije tapetuma dostižu najveći razvoj u vreme stadijuma tetrada, kada tapetum čini



kompaktan omotač koji potpuno okružuje sporogeno tkivo (Slika 22 – d). Čelije tapetuma ne menjaju svoj položaj u toku razvoja mikrospora, na osnovu čega tapetum oraha pripada sekretornom tipu. Posle formiranja tetrada, počinje postepeno dezorganizovanje tapetuma, tako da se u vreme pucanja antera njihov zid sastoji uglavnom od epidermisa i endotecijuma, dok su ostaci međusloja i tapetuma jedva primetni.

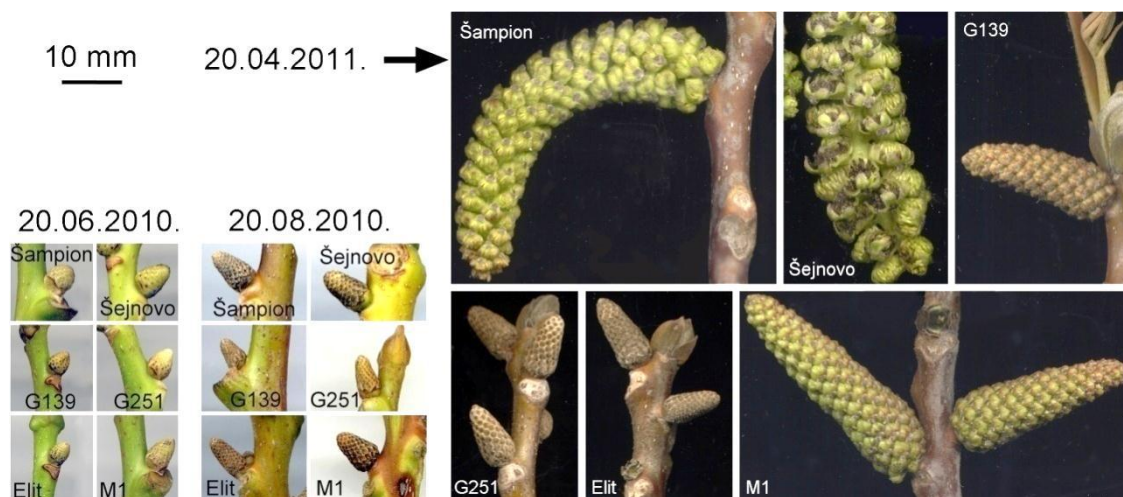
**Tabela 14.** Dimenzije resa u periodu jun-novembar (mm).

Genotip	Dužina resa			Širina resa		
	20. 06.	20. 08.	20. 11.	20. 06.	20. 08.	20. 11.
Šampion	5,6 ± 0,32	7,6 ± 0,50	7,6 ± 0,43	4,3 ± 0,12	4,6 ± 0,20	4,8 ± 0,19
Šejново	6,6 ± 0,18	7,9 ± 0,19	8,1 ± 0,29	4,6 ± 0,09	4,7 ± 0,25	5,1 ± 0,24
G139	5,0 ± 0,22	5,6 ± 0,32	6,7 ± 0,34	3,5 ± 0,12	3,7 ± 0,10	3,8 ± 0,18
G251	5,0 ± 0,29	6,7 ± 0,45	6,7 ± 0,46	3,5 ± 0,30	4,0 ± 0,07	4,1 ± 0,12
Elit	3,7 ± 0,26	7,1 ± 0,37	7,3 ± 0,15	3,1 ± 0,23	3,6 ± 0,03	3,7 ± 0,03
M1	5,0 ± 0,35	6,9 ± 0,44	7,5 ± 0,35	3,6 ± 0,23	4,5 ± 0,28	4,5 ± 0,23
Prosek	5,2 ± 0,23	7,0 ± 0,22	7,3 ± 0,20	3,8 ± 0,14	4,2 ± 0,13	4,3 ± 0,16

Kod svih ispitivanih genotipova rast mladih resa bio je intenzivan do avgusta, da bi posle tog vremena njihov rast znatno oslabio (Tabela 14 i Slika 23). Prosečna dužina resa u junu u trogodišnjem periodu istraživanja iznosila je 5,2 mm, a širina 3,8 mm. U tom momentu, najveće rese utvrđene su kod sorte Šejново (6,6 × 4,6 mm), a najmanje kod sorte Elit (3,7 × 3,1 mm). U avgustu su rese bile prosečno za 1,8 mm duže i za 0,4 mm šire nego u junu. Najveća dužina resa tada je utvrđena kod sorte Šejново (7,9 mm), a namanja kod sorte G139 (5,6 mm). Najveću širinu u avgustu imale su rese sorte Šejново (4,7 mm), dok je najmanja širina resa utvrđena kod sorte Elit (3,6 mm). U novembru su rese bile prosečno za 0,3 mm duže i za 0,1 mm šire nego u avgustu. Najveću dužinu u periodu mirovanja imale su rese sorte Šejново (8,1 mm), a najmanju dužinu rese sorti G139 i G251 (6,7 mm). Najveća širina resa u periodu mirovanja utvrđena je kod sorte Šejново, a najmanja širina resa bila je kod sorte Elit.

Između dužine i širine resa u junu utvrđena je jaka pozitivna korelacija ( $r = 0,85^{**}$ ). Korelacija između dužine i širine resa u avgustu bila je srednje jaka ( $r = 0,57^{**}$ ), dok je korelacija između dužine i širine resa u novembru bila slaba ( $r = 0,42^{**}$ ). Između dužine resa u junu i dužine resa u vreme pucanja antera utvrđena

je negativna srednje jaka korelacija ( $r = -0,70^{**}$ ), dok je korelacija između dužine resa u junu i dužine resa izmerenih u ostalim terminima merenja bila slaba ( $r < 0,25$ ).



**Slika 23.** Uporedni prikaz izgleda resa ispitivanih sorti u prirodnoj veličini u različitim fazama razvitka.

Cvetovi sorti Šejново i Šampion najranije nastavljaju razvitak u proleće. Rese, koje su još čvrste, zbijene i koso postavljene na grančici, u toku februara počinju da rastu, ali je taj rast slabog intenziteta i pod velikim uticajem spoljašnjih temperatura. U toku februara dužina resa kod sorti Šejново i Šampion bila je povećana u proseku za 0,5-1 mm, dok je u martu rast resa bio dosta intenzivniji. Približavanjem vremena cvetanja, promene u rastu i razvitku resa postaju sve intenzivnije (Slika 23). Osovina rese se izdužuje, rese postaju rastresitije, muški cvetovi počinju da se otvaraju. Rese ubrzo dobijaju viseći položaj. Na nekoliko dana pred cvetanje, antere počinju da žute. Najpre pucaju antere koje se nalaze u osnovi rese, kao i antere koje su više časova bile izložene direktnoj sunčevoj svetlosti. U uslovima suvog i toplog vremena rese oslobode sav polen u roku od 2-3 dana. Hladno i vlažno vreme utiče nepovoljno na pucanje antera. Prazne antere dobijaju mrku boju i suše se. Kada u većini cvetova antere ispucaju, rese lako otpadaju pri dodiru ili slabijem vetru.

Rese počinju da praše najpre kod sorte Šejново (prosečno 15. aprila), a najkasnije kod sorte Elit (11. maja) (Tabela 15). Prašenje resa trajalo je najduže kod sorte Šejново i spontanog sejanca M1 (12 dana), a najkraće kod sorte G251 (osam dana).

**Tabela 15.** Fenologija prašenja resa (prosečne vrednosti za tri godine).

Genotip	Početak prašenja resa		Početak punog prašenja resa		Završetak punog prašenja resa		Početak otpadanja resa		Trajanje resanja (dani)
	Datum	BD <sup>1</sup>	Datum	BD	Datum	BD	Datum	BD	
Šejnovno	15. IV	-	18. IV	-	24. IV	-	27. IV	-	12
M1	27. IV	+12	30. IV	+12	6. V	+12	9. V	+12	12
Šampion	17. IV	+2	20. IV	+2	25. IV	+1	28. IV	+1	11
G139	2. V	+17	4. V	+16	9. V	+15	11. V	+14	9
G251	7. V	+22	8. V	+20	13. V	+19	15. V	+18	8
Elit	11. V	+26	13. V	+25	18. V	+24	20. V	+23	9

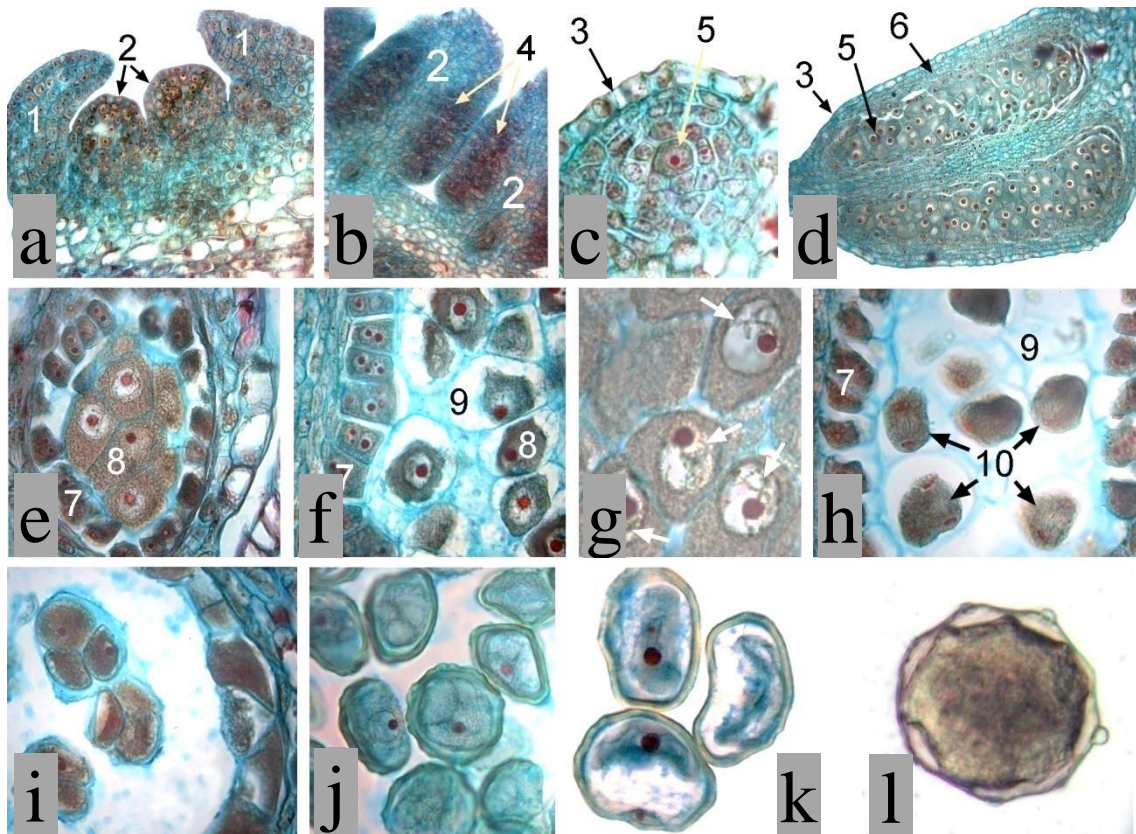
BD<sup>1</sup>: Broj dana u odnosu na kontrolu (sorta Šejnovno).

Na osnovu prosečnih vremena cvetanja muških i ženskih cvetova u trogodišnjem periodu istraživanja (Tabela 10 i Tabela 15), može se zaključiti da su sorte Šampion i Šejnovno protandrične, dok su sorte G139, G251 i sejanac M1 protoginične. Sorta Elit je najčešće protoginična, ali u pojedinim godinama naginje homogamiji.

### 7.3.5. Formiranje mikrogametofita

Neposredno posle inicijacije, primordije prašnika sastoje se od homogene mase meristemskih ćelija, koja je sa spoljne strane prekrivena epidermisom (Slika 24 - a). Prvi vidljivi znaci početka mikrosporogeneze na histološkim presecima antera bili su intenzivne periklinalne i antiklinalne mitotičke deobe primarnih sporogenih ćelija, i povećanje mase sporogenog tkiva u mladim polenovim kesicama (Slika 24 - b).

Ćelije sporogenog tkiva u početku su pretežno okruglastog oblika, a kasnije na histološkim preparatima imaju poligonalan oblik usled uzajamnog pritiska. U odnosu na okolne meristemske i parenhimske ćelije u anteri, sporogene ćelije imaju gušću citoplazmu, krupnije su i imaju izraženije jedro (Slika 24 - c). Sporogene ćelije su obično poredane u nekoliko nizova, koji su paralelni sa uzdužnom osom polenove kesice (Slika 24 - d).

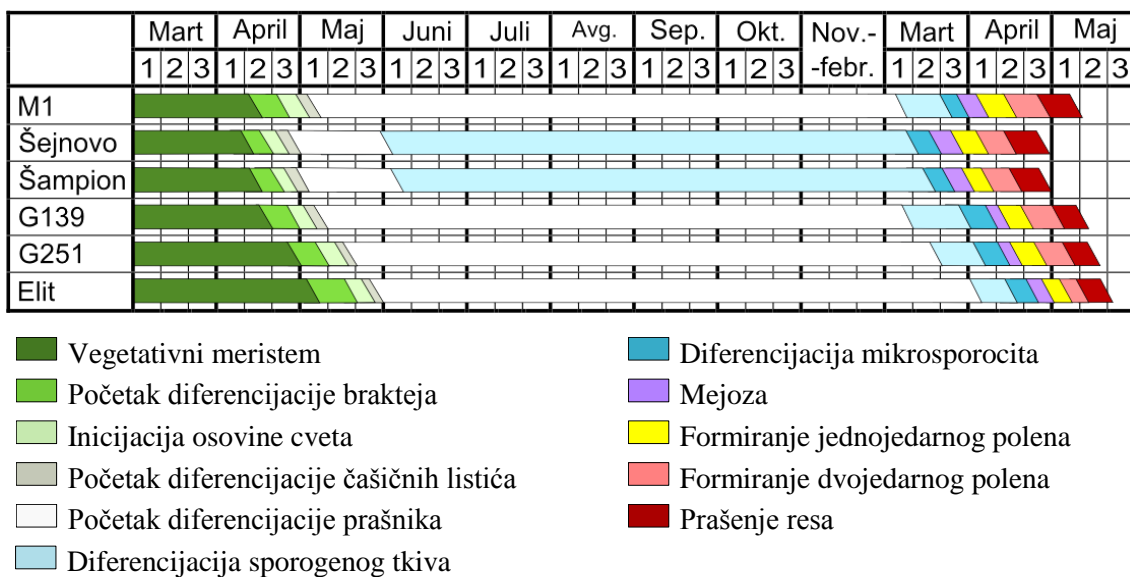


**Slika 24.** Formiranje mikrogametofita: a) primordije prašnika izgrađene od homogene mase meristemskog tkiva; b) obrazovanje sporogenog tkiva u mladim polenovim kesicama; c) poprečni presek polenove kesice sa sporogenom ćelijom; d) uzdužni presek antere sa sporogenim tkivom u polenovim kesicama; e) poprečni presek polenove kesice sa mikrosporocitama; f) mejocite obavijene debelim kaloznim zidom; g) mejocite u profazi I mejoze (ćelije sa vidljivim hromozomima označene su strelicama); h) mejocite u anafazi II mejoze; i) tetrade mikrospora obavijene kaloznim omotačem; j) jednojedarne mikrospore u periodu vakuolizacije; k) delimično dehidratisana polenova zrna u dvojedarnom stadijumu. l – hidratisano polenovo zrno spremno za klijanje polenove cevčice. 1 – primordije čašičnih listića; 2 – antere; 3 – epidermis antere; 4 – polenove kesice sa primarnim sporogenim tkivom; 5 – sporogena ćelija; 6 – višeslojni zid antere; 7 – tapetum; 8 – mejocita; 9 – kalozni omotač; 10 – mejocite u anafazi II mejoze.

Kod sorti Šejnovo i Šampion prisustvo sporogenog tkiva bilo je uočeno već u prvoj dekadi juna, kod sejanca M1 u prvoj dekadi marta sledeće godine, kod sorte G251

u drugoj dekadi marta, a kod sorte Elit sporogene ćelije počinju da se formiraju tek početkom aprila (Grafikon 21).

Kada ćelije sporogenog tkiva prestanu da se dele, započinje njihov intenzivan rast. Citoplazma im postaje još gušća, jedro im se nesrazmerno uvećava u odnosu na dimenzije ćelije, a jedarce postaje izraženije (Slika 24 - e). Kod većine proučavanih genotipova u toku druge polovine marta sporogene ćelije su imale veličinu i izgled koji je karakterističan za mikrosporocite. Kod sorte Elit stadijum mikrosporocita nastupa tek u prvoj dekadi aprila (Grafikon 21).



**Grafikon 21.** Dinamika formiranja resa i muškog gametofita. Vremenski termini dešavanja razvojnih stadijuma predstavljaju prosečne vrednosti za period od 2010. do 2012. godine.

Pre ulaska u mejozu, mikrosporocite imaju normalne celulozne zidove. Ubrzo po ulasku u mejozu, kaloza počinje da se deponuje u međucelijskim prostorima, što ima za posledicu razdvajanje mikrosporocita i njihovo pojedinačno izolovanje pre profaze mejoze. Na histološkim presecima u ovom stadijumu mikrosporogeneze bili su vidljivi citoplazmatični kanali koji su povezivali mikrosporocite međusobno i sa ćelijama tapetuma. Uporedo sa stvaranjem kaloznog zida, pre mejoze postepeno dolazi do razgradnje ćelijskih zidova mikrosporocita.

Kada mikrosporocite započnu mejozu, kidaju se veze između ćelija tapetuma i mikrosporocita, a zidovi mikrosporocita postaju još deblji usled depozicije kaloze (Slika 24 – f). Kod sorte Šejnovo mejoza počinje najranije (krajem prve i početkom druge dekade marta), a kod sorte Elit najkasnije (najčešće sredinom aprila). Kod većine sorti rese su tada duge 12-15 mm. Mejoza najpre počinje u cvetovima u osnovi rese, tako da dok su u donjim cvetovima već formirane tetrade, u vršnim cvetovima je još prisutno sporogeno tkivo. Na histološkim preparatima bilo je moguće determinisati završetak profaze I zahvaljujući dobroj vidljivosti hromozoma u pahitenu (Slika 24 – g). Posle prve mejotičke deobe, ne dolazi do obrazovanja ćelijskog zida (nema stadijuma dijada), već nastaje dvojedarna ćelija. Dva haploidna jedra sinhrono podležu drugoj mejotičkoj deobi, koja u suštini predstavlja mitozu, što ima za posledicu stvaranje četiri haploidna jedra. Na histološkim preparatima izgled deobnih vretena ukazivao je da su ona u ćeliji bila postavljena međusobno pod pravim uglom (Slika 24 – h). Takav položaj deobnih vretena uzrok je specifičnog rasporeda mikrospora u tetradama, tako što je jedan par mikrospora zaokrenut za  $90^\circ$  u odnosu na drugi par (Slika 24 – i). Ovakav raspored mikrospora u tetradama označava se kao dekusiran.

Po završetku mejoze, citoplazmatične veze između mikrospora nestaju. U većini slučajeva mlade mikropore potpuno su izolovane međusobno kaloznim omotačem kako u okviru tetrada, tako i od mikrospora u drugim tetradama. Tetrade ostaju obavijene kalozom još neko vreme posle mejoze, a zatim kalozni zid nestaje i mikropore se razdvajaju. Još dok su u kaloznom omotaču, mikropore počinju da sintetišu svoje ćelijske zidove.

Neposredno pošto se mikropore oslobode iz tetrada, njihova citoplazma nije vakuolizirana, ali vakuolizacija uskoro počinje. Vakuole potiskuju jedro iz centralnog dela ćelije na jednu njenu stranu, a citoplazma se premešta na periferiju ćelije u vidu tankog sloja uz ćelijski zid (Slika 24 – j). U toku perioda vakuolizacije dolazi do najvećeg povećanja dimenzije ćelije u toku razvitka polena, kada prečnik mikropore u tom momentu obično dostiže tri četvrtine prečnika zrelog polenovog zrna. Period vakuolizacije traje do početka mitoze mikropore, kada vakuole bivaju u potpunosti resorbovane.

Nakon što se jedro polenovog zrna podeli mitozom, završava se period mikropore i nastaje dvojedarni stadijum muškog gametofita. Na strani bliže zidu

polenovog zrna obično se nalazi sitnije, generativno jedro, a prema sredini polena smešteno je krupnije, vegetativno jedro. Mitoza polenovih zrna ne dešava se sinhronizovano u polenovim kesicama kao mejoza. Polenovo zrno oraha oslobađa se iz antera u dvojedarnom stanju i delimično je dehidratirano.

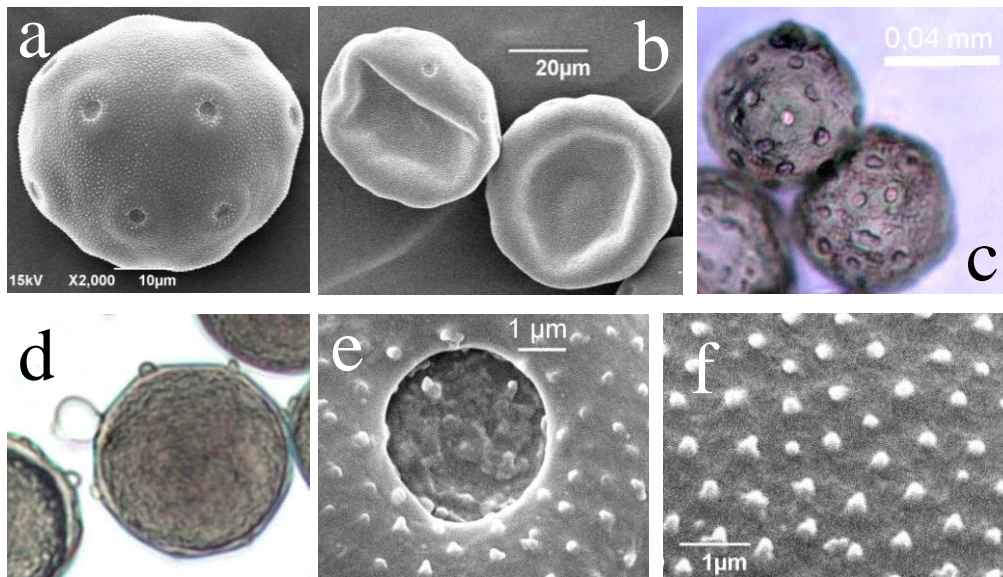
### **7.3.6. Građa i morfometrija polenovih zrna**

Hidratirani polen oraha je skoro loptastog oblika (Slika 25 – c i d), dok je dehidratirani polen ugnut i podseća na ispumpanu loptu (Slika 25 – b). Citoplazma polenovog zrna zaštićena je zidom, koji se sastoji od dve opne, egzine i intine. Na spoljašnjoj opni, egzini nalaze se brojne pore, koje služe za klijanje polenove cevčice (Slika 25 – d i e). Na snimcima polenovih zrna koji su urađeni primenom SEM-a pore su vidljive u ekvatorijalnoj zoni polena i na njegovoj ispupčenoj hemisferi, dok ih na ugnutoj hemisferi polenovog zrna nema (Slika 25 – a i b). Sa unutrašnje strane egzine priljubljena je intina, čiji delovi ispunjavaju otvore u egzini (Slika 25 – d i e). Površina egzine prekrivena je gusto rasutim sitnim bodljama (Slika 25 – f).

Ukupna prosečna širina polenovih zrna iznosila je 45,9  $\mu\text{m}$ . Na širinu polenovih zrna vrlo visoko značajan uticaj imao je genotip, dok uticaji godine i interakcije genotip  $\times$  godina nisu bili značajni (Tabela 16). Najveća širina polenovih zrna utvrđena je kod sorte G251 (48,3  $\mu\text{m}$ ), a najmanja kod sorte Elit (44,1  $\mu\text{m}$ ).

Ukupna prosečna dužina polenovih zrna iznosila je 42,8  $\mu\text{m}$ . Na ovaj parametar vrlo visoko značajan uticaj ispoljio je genotip. Uticaji godine i interakcije genotip  $\times$  godina nisu bili značajni (Tabela 16). Najveća dužina polenovih zrna utvrđena je kod sorti G251 (44,5  $\mu\text{m}$ ) i Šejново (44,4  $\mu\text{m}$ ), a najmanja kod sorte Elit (40,5  $\mu\text{m}$ ).

Ukupan prosečan indeks oblika polenovih zrna iznosio je 0,93. Na ovaj parametar vrlo visoko značajan uticaj imao je genotip, dok uticaji godine i interakcije genotip  $\times$  godina nisu bili značajni (Tabela 16). Najveći indeks oblika polenovih zrna utvrđen je kod sorti Šejново (0,95) i G139 (0,95), a najmanji kod sorte Šampion (0,91).



**Slika 25.** Morfološke karakteristike polena oraha: a) ispupčena strana dehidratiranog polenovog zrna snimljena pomoću skenirajućeg elektronskog mikroskopa (SEM-a); b) ugnuta strana dehidratiranog polenovog zrna snimljena pomoću SEM-a; c) hidratirana polenova zrna posmatrana pod svetlosnim mikroskopom; d) hidratirano polenovo zrno u početnim fazama klijanja polenove cevčice (egzina je tamna i nalazi se spolja, a tanki svetli sloj ispod nje je intina, čija su zadebljanja naročito uočljiva u zoni pora na egzini); e) snimak pore na egzini urađen pomoću SEM-a; f) snimak mikrobodlji na egzini urađen pomoću SEM-a.

Ukupna prosečna dužina pora na polenovom zrnu iznosila je 3,6  $\mu\text{m}$ . Na ovaj parametar vrlo visoko značajan uticaj ispoljio je genotip, dok uticaji godine i interakcije genotip  $\times$  godina nisu bili značajni (Tabela 16). Najveća dužina pora utvrđena je kod sejanca M1 (3,8  $\mu\text{m}$ ) i sorte Elit (3,9  $\mu\text{m}$ ), a najmanja kod sorte G251 (3,1  $\mu\text{m}$ ).

Ukupna prosečna širina pora na polenovom zrnu iznosila je 3  $\mu\text{m}$ . Na ovaj parametar vrlo visoko značajan uticaj ispoljio je genotip. Najveća širina pora utvrđena je kod sorte Elit i sejanca M1 (3,3  $\mu\text{m}$ ), a najmanja kod sorti G139 i G251 (2,7  $\mu\text{m}$ ). Širina pora je u 2011. godini bila manja za 0,2  $\mu\text{m}$  u odnosu na 2012. godinu, ali ova razlika nije bila značajan. Uticaj interakcije genotip  $\times$  godina na širinu pora polenovog zrna takođe nije bio značajan (Tabela 16).



Ukupno prosečno rastojanje između mikrobodlji na egzini iznosilo je 0,77  $\mu\text{m}$ . Na ovaj parametar vrlo značajan uticaj ispoljio je genotip, dok uticaji godine i interakcije genotip  $\times$  godina nisu bili značajni (Tabela 16). Najveće rastojanje između mikrobodlji utvrđeno je kod sejanca M1 (0,84  $\mu\text{m}$ ) i sorte G251 (0,81  $\mu\text{m}$ ), a najmanje kod sorte Elit (0,66  $\mu\text{m}$ ).

Ukupno prosečno rastojanje između pora iznosilo je 16,1  $\mu\text{m}$ . Na ovaj parametar nisu značajno uticali godina i genotip.

**Tabela 16.** Morfometrijske karakteristike polena.

Faktor	Nivoi faktora	Širina polenovih zrna ( $\mu\text{m}$ )	Dužina polenovih zrna ( $\mu\text{m}$ )	Indeks oblika polenovih zrna	Dužina pora ( $\mu\text{m}$ )	Širina pora ( $\mu\text{m}$ )	Rastojanje između mikrobodlji ( $\mu\text{m}$ )
Genotip (A)	Šampion	45,0 $\pm$ 0,26 ab	41,7 $\pm$ 0,33 ab	0,91 $\pm$ 0,01 a	3,6 $\pm$ 0,13 bc	3,0 $\pm$ 0,09 ab	0,77 $\pm$ 0,03 ab
	Šejnovno	46,8 $\pm$ 0,35cd	44,4 $\pm$ 0,30 c	0,95 $\pm$ 0,01 cd	3,6 $\pm$ 0,15 bc	3,0 $\pm$ 0,10 ab	0,75 $\pm$ 0,03 ab
	G139	45, $\pm$ 0,41 bc	43,2 $\pm$ 0,38 bc	0,95 $\pm$ 0,01 cd	3,4 $\pm$ 0,11 ab	2, $\pm$ 0,11 a	0,77 $\pm$ 0,03 ab
	G251	48,3 $\pm$ 0,28 d	44,5 $\pm$ 0,34 c	0,92 $\pm$ 0,01 abc	3,1 $\pm$ 0,08 a	2,7 $\pm$ 0,11 a	0,81 $\pm$ 0,04 b
	Elit	44,1 $\pm$ 0,38 a	40,5 $\pm$ 0,54 a	0,92 $\pm$ 0,01 ab	3,9 $\pm$ 0,09 c	3,3 $\pm$ 0,12 b	0,66 $\pm$ 0,02 a
	M1	45,3 $\pm$ 0,53 abc	42,7 $\pm$ 0,56 b	0,94 $\pm$ 0,01 bcd	3,8 $\pm$ 0,12 c	3,3 $\pm$ 0,15 b	0,84 $\pm$ 0,02 b
Godina (B)	2010	45,8 $\pm$ 0,32 a	43,0 $\pm$ 0,35 a	0,93 $\pm$ 0,01 a	-	-	-
	2011	46,2 $\pm$ 0,34 a	42,5 $\pm$ 0,36 a	0,92 $\pm$ 0,01 a	3,6 $\pm$ 0,08 a	2,9 $\pm$ 0,08 a	0,77 $\pm$ 0,02 a
	2012	45,6 $\pm$ 0,29 a	42,9 $\pm$ 0,33 a	0,94 $\pm$ 0,01 a	3,6 $\pm$ 0,07 a	3,1 $\pm$ 0,07 a	0,76 $\pm$ 0,02 a
Ukupan prosek		45,9 $\pm$ 0,18	42,8 $\pm$ 0,20	0,93 $\pm$ 0,003	3,6 $\pm$ 0,05	3,0 $\pm$ 0,05	0,77 $\pm$ 0,01
ANOVA							
A		***	***	***	***	***	**
B		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
A $\times$ B		NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ

## 7.4. Klijavost polena

### 7.4.1. Uticaj sastava hranljive podloge na klijavost polena

Kao preliminarni ogled, u 2010. godini, ispitivan je uticaj sastava hranljive podloge na klijavost polena sorte Šejnovno. Na klijavost polena ove sorte vrlo visoko značajno je uticala koncentracija saharoze u hranljivoj podlozi. Najveća prosečna klijavost (37,4%) ostvarena je na podlogama koje su sadržale 20% saharoze (Tabela 17), dok je na podlogama sa 25% saharoze klijavost polena bila najmanja i ni u jednoj kombinaciji sa ostalim sastojcima hranljive podloge nije prelazila 25%. Prosečna

klijavost polena na podlogama sa 15% saharoze iznosila je 12% i bila je niža nego na podlogama sa 10% i 20% saharoze.

Dodavanje borne kiseline u hranljivu podlogu imalo je za posledicu porast klijavosti polena sorte Šejново, ali razlika u klijavosti na podlogama sa 200 ppm borne kiseline i bez nje nije bila značajna. Vrlo visoko značajno povećanje klijavosti polena dobijeno je povećanjem koncentracije borne kiseline sa 200 ppm na 400 ppm. Najveća prosečna klijavost polena (19,8%) ostvarena je na podlogama sa 600 ppm borne kiseline i bila je za 0,7% veća nego na podlogama koje su sadržale 400 ppm borne kiseline. Ova razlika, međutim nije bila statistički značajna.

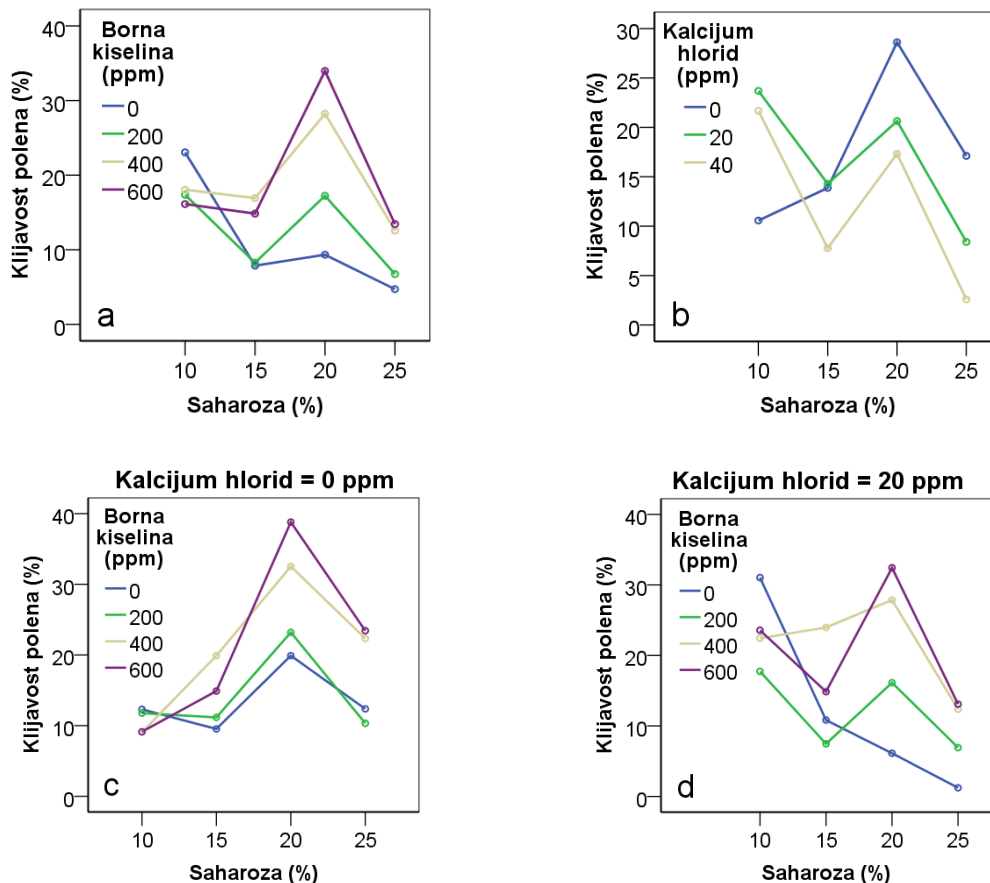
**Tabela 17.** Uticaj sadržaja saharoze, borne kiseline i kalcijum hlorida u hranljivoj podlozi na klijavost polena sorte Šejново u 2010. godini.

Faktori	Nivoi faktora	Klijavost polena (%)
Saharoza (A)	10 %	18,6 a
	15 %	12,0 b
	20 %	22,2 c
	25%	9,4 d
Borna kiselina (B)	0 ppm	11,2 a
	200 ppm	12,4 a
	400 ppm	18,9 b
	600 ppm	19,6 b
Kalcijum hlorid (C)	0 ppm	17,5 a
	20 ppm	16,8 a
	40 ppm	12,3 b
Prosek		15,5
ANOVA		
Faktori		<i>p</i>
Saharoza (A)		***
Borna kiselina (B)		***
Kalcijum hlorid (C)		***
A × B		***
A × C		***
B × C		NZ
A × B × C		***

Prosečna klijavost polena sorte Šejново bila je najveća na podlogama bez kalcijum hlorida (17,2%), dok je povećanje njegove koncentracije u podlozi negativno uticalo na klijavost polena (Tabela 17). U podlogama u kojima je dodato 40 ppm kalcijum hlorida prosečna klijavost polena ove sorte iznosila je 12,7%. Negativno

dejstvo kalcijum hlorida na klijavost polena sorte Šejново bilo je jače ispoljeno u kombinaciji sa većom koncentracijom saharoze (Grafikon 24 – b).

Vrlo visoko značajan uticaj na klijavost polena sorte Šejново ispoljile su interakcije: saharoza × borna kiselina, saharoza × kalcijum hlorid i saharoza × borna kiselina × kalcijum hlorid (Grafikon 22 – c i d).



**Grafikon 22.** Uticaj interakcija između sastojaka hranljive podloge na klijavost polena sorte Šejново: a) saharoza × borna kiselina; b) saharoza × kalcijum hlorid; c) i d) saharoza × borna kiselina × kalcijum hlorid.

U 2011. i 2012. godini ispitivan je uticaj sastava hranljive podloge na klijavost polena sorti Šejново, Elit, Šampion i G251. Na klijavost polena značajno su uticali sorta, kao i koncentracije agara, saharoze, borne kiseline i kalcijum hlorida u podlozi za naklijavanje. Uočene su značajne interakcije između svih faktora u ogledu (Tabela 18).

Prosečna klijavost polena bila je veća u 2011. godini (13,6%) nego u 2012. (12,3%). Ove razlike su bile statistički značajne.

**Tabela 18.** Uticaj sorte i sastava hranljive podloge na klijavost polena.

Faktori	Nivoi faktora	Klijavost polena (%)
Sorta (A)	Šejново	13,7 a
	Elit	15,6 b
	Šampion	15,9 b
	G251	6,6 c
Agar (B)	0,6 %	13,7 a
	0,8 %	13,7 a
	1 %	11,5 b
Saharoza (C)	10 %	12,8 a
	15 %	15,2 b
	20 %	11,0 c
Borna kiselina (D)	0 ppm	8,7 a
	200 ppm	14,7 b
	400 ppm	15,6 c
Kalcijum hlorid (E)	0 ppm	10,4 a
	50 ppm	15,5 b
Godina (F)	2011	13,6 b
	2012	12,3 a
Prosek		13,0
ANOVA		
Faktori		<i>p</i>
Sorta (A)		0,000
Agar (B)		0,000
Saharoza (C)		0,000
Borna kiselina (D)		0,000
Kalcijum hlorid (E)		0,000
Godina (F)		0,000
A×B, A×C, A×D, A×E, A×F, B×C, B×D, B×E, B×F, C×D, C×E, C×F, D×E, D×F, E×F		0,000
A×B×C, A×B×D, A×B×E, A×B×F, A×C×D, A×C×E, A×D×E, A×D×F, A×E×F, B×C×D, B×C×E, B×C×F, B×D×E, B×D×F, B×E×F, C×D×E, C×E×F, D×E×F		0,000
A×C×F		0,078
C×D×F		0,085
A×B×C×D, A×B×C×E, A×B×C×F, A×B×D×E, A×B×D×F, A×C×D×E, A×C×D×F, B×C×D×E, B×C×D×F, C×D×E×F		0,000
A×B×C×F		0,007
A×C×E×F		0,011
B×D×E×F		0,928

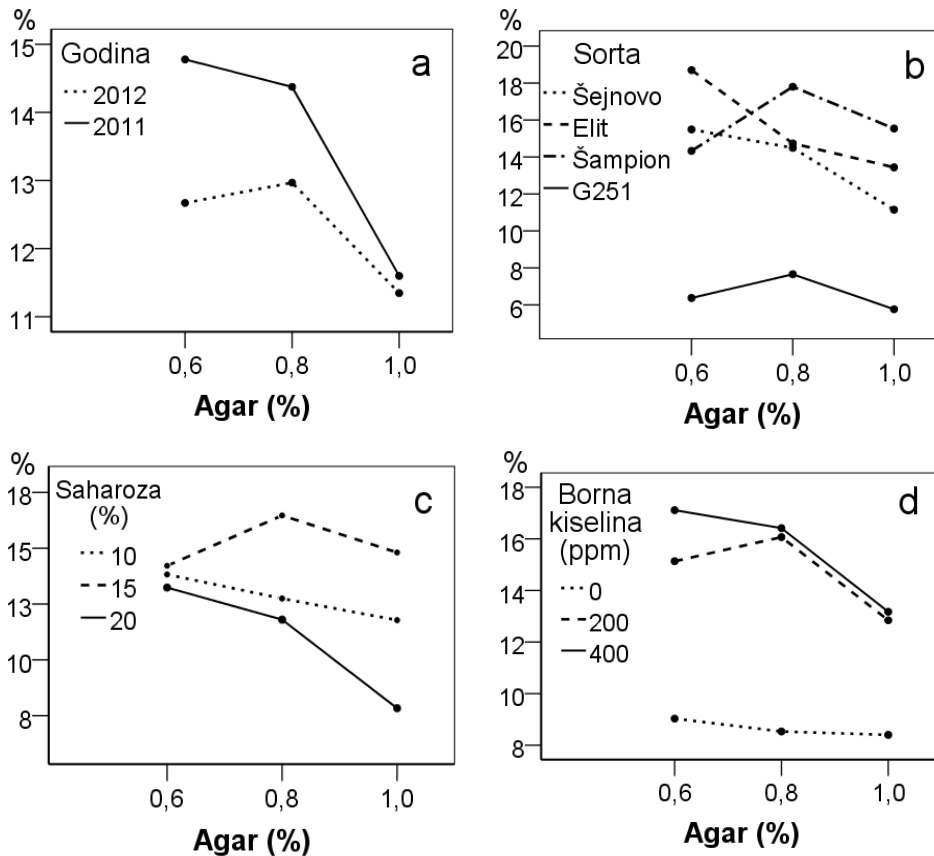
Najveću prosečnu klijavost polena u toku dvogodišnjeg perioda istraživanja imao je polen sorti Šampion (15,9%) i Elit (15,6%), a najmanju polen sorte G251 (6,6%) (Tabela 18).

Između sorte i godine ispoljena je interakcija. U 2011. godini najveću prosečnu klijavost polena imala je sorta Šampion (16,1%), dok je u 2012. godini najveća klijavost polena bila utvrđena kod sorte Elit (15,8%). U 2011. godini klijavost polena sorte G251 bila je značajno manja (3,2%) nego u 2012. godini (9,6%), dok je kod sorte Šejново klijavost polena u 2011. godini iznosila 14,2% i za jedan procenat bila je veća nego u 2012. godini.

Između sorte i sastava podloge ispoljena je interakcija. Najveća klijavost polena sorte Šejново (33,2%) u obe godine ostvarena je na podlozi sa 0,6% agara, 20% saharoze, 400 ppm borne kiseline i 0 ppm kalcijum hlorida. Sorta Elit u 2011. godini imala je najveću klijavost (36,4%) na podlozi sa 0,6% agara, 15% saharoze, 400 ppm borne kiseline i 50 ppm kalcijum hlorida, dok je u 2012. godini najveća klijavost polena (52,1%) ostvarena na sličnoj podlozi, ali sa duplo nižim sadržajem borne kiseline (200 ppm). Najveća klijavost polena sorte Šampion u obe godine ostvarena je na podlozi koja je sadržala 0,8% agara, 20% saharoze, 400 ppm borne kiseline i 0 ppm kalcijum hlorida. U 2011. godini najveća klijavost polena na ovoj podlozi iznosila je 48,3%, a u 2012. godini 44,1%. Klijavost polena sorte G251 u 2011. godini bila je najveća (13,6%) na podlozi sa 0,8% agara, 10% saharoze, 400 ppm borne kiseline i 50 ppm kalcijum hlorida, dok je u 2012. godini polen ove sorte najbolje klijaao na podlozi koja je sadržala 0,8% agara, 15% saharoze, 200 ppm borne kiseline i 50 ppm kalcijum hlorida, dostigavši klijavost 20,1%.

Ukupna prosečna klijavost polena na hranljivim podlogama sa 0,6% i 0,8% agara iznosila je 13,7% i bila je za 2,2% veća nego na podlogama koje su sadržale 1% agara (Tabela 18). U 2011. godini utvrđena je nešto veća klijavost polena na podlogama sa 0,6% nego sa 0,8% agara, dok je u 2012. godini bilo obrnuto, ali ove razlike nisu bile statistički značajne (Grafikon 23 – a). Polen sorti Šampion i G251 najbolje je klijaao na podlogama koje su sadržale 0,8% agara, dok je najbolja klijavost polena sorti Šejново i Elit ostvarena na podlogama sa 0,6% agara (Grafikon 23 – b). Na podlogama sa 10% i 20% saharoze najveća klijavost polena ostvarena je pri koncentraciji agara 0,6%, dok je u prisustvu 15% saharoze polen najbolje klijaao na podlogama sa 0,8% agara (Grafikon

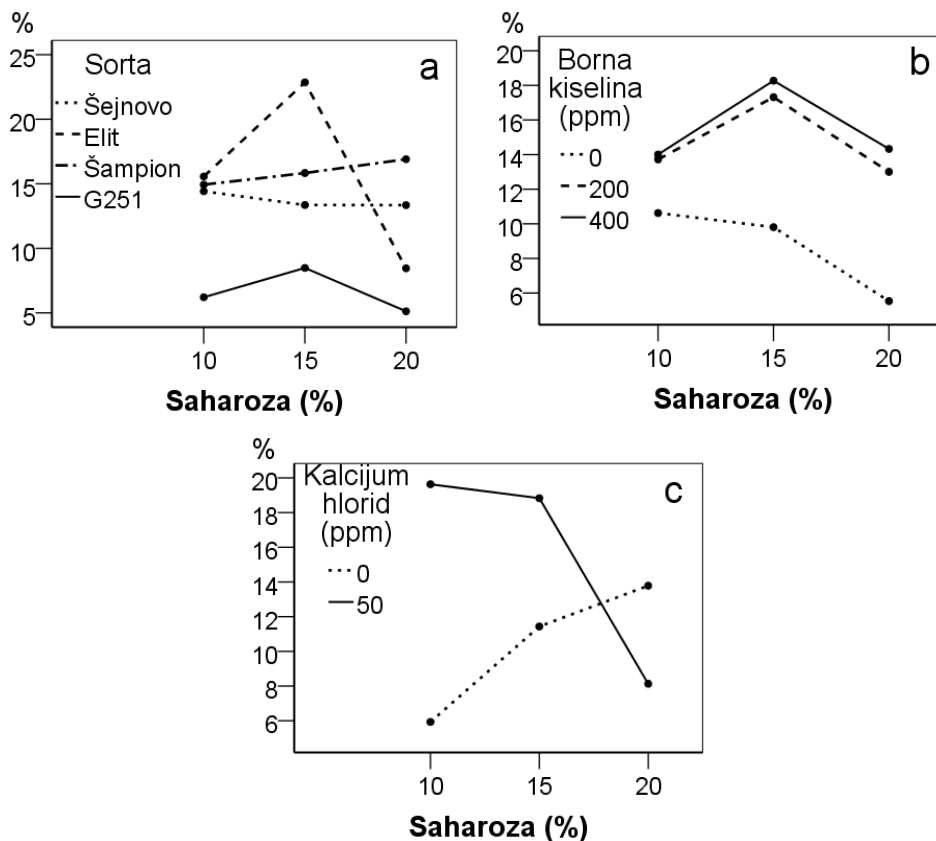
23 – c). U odsustvu borne kiseline, kao i u hranljivim podlogama koje su sadržale 400 ppm borne kiseline najveća klijavost polena ostvarena je pri koncentraciji agara 0,6%. Na podlogama sa 200 ppm borne kiseline polen je najbolje klijaio kada su podloge sadržale 0,8% agara (Grafikon 23 – d).



**Grafikon 23.** Uticaj interakcija između sastojaka hranljive podloge na klijavost polena oraha: a) agar × godina; b) agar × sorta; c) agar × saharoza; d) agar × borna kiselina.

U obe godine istraživanja najveća prosečna klijavost polena ostvarena je na podlogama koje su sadržale 15% saharoze, a najmanja na podlogama sa 20% saharoze. Polen sorti Elit i G251 najbolje je klijaio na podlogama koje su sadržale 15% saharoze. Povećanje koncentracije saharoze u hranljivoj podlozi imalo je za posledicu blago povećanje klijavosti polena sorte Šampion i blago smanjenje klijavosti polena sorte Šejново (Grafikon 24 – a). U odsustvu borne kiseline povećanje koncentracije saharoze uticalo je negativno na klijavost polena, dok je u podlogama u kojima je bila dodata borna kiselina najveća klijavost ostvarena u kombinaciji sa 15% saharoze (Grafikon 24

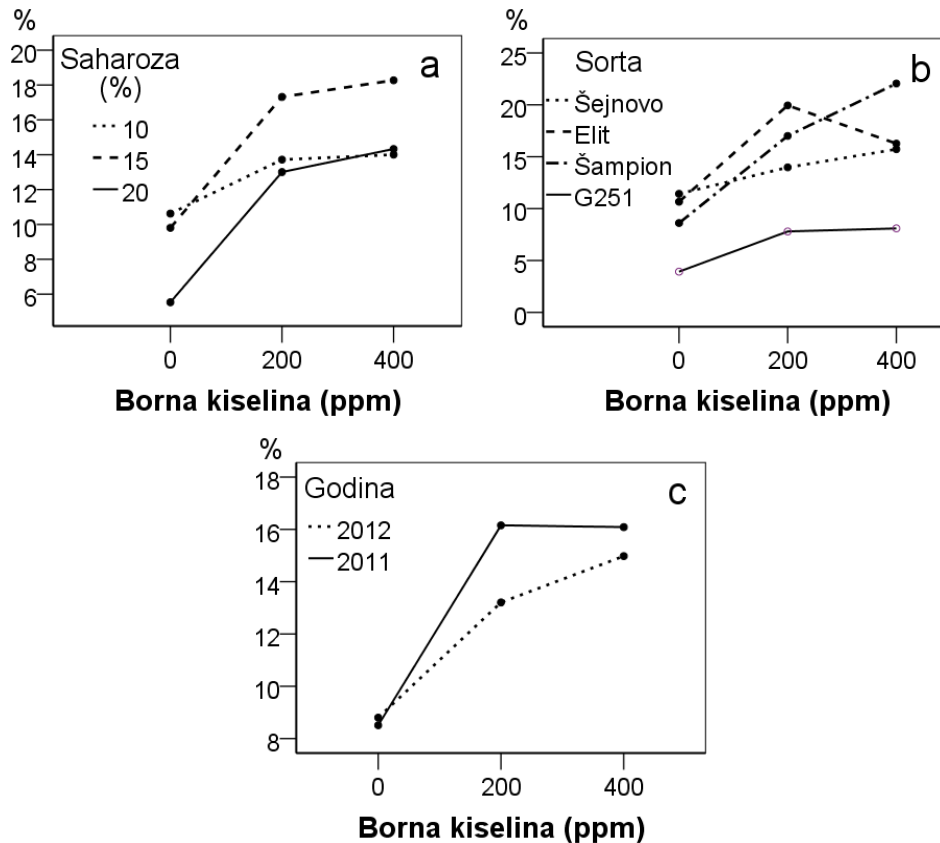
– b). U odsustvu kalcijum hlorida povećanje sadržaja saharoze dovelo je do povećanja klijavosti polena, dok je u podlogama u kojima je dodat kalcijum hlorid povećanje sadržaja saharoze negativno uticalo na klijavost polena. Negativni efekat ove interakcije naročito je bio izražen na podlogama koje su sadržale 50 ppm kalcijum hlorida i 20% saharoze (Grafikon 24 – c).



**Grafikon 24.** Uticaj interakcija između sastojaka hranljive podloge na klijavost polena oraha: a) saharoza × sorta; b) saharoza × borna kiselina; c) saharoza × kalcijum hlorid.

Prosečna klijavost polena bila je značajno veća na hranljivim podlogama koje su sadržale bornu kiseline nego na podlogama bez nje. Ovo povećanje klijavosti polena bilo je izraženije na podlogama sa većim sadržajem saharoze (15% i 20%) nego na podlogama koje su sadržale 10% saharoze (Grafikon 25 – a). Sa povećanjem količine borne kiseline u podlozi najbrže je rasla klijavost polena sorte Šampion, dok je kod sorti Šejnovno i G251 povećanje klijavosti polena bilo manje izraženo. Polen sorte Elit je najbolje klijavao na podlogama sa 200 ppm borne kiseline (Grafikon 25 – b).

U 2011. godini nije bilo statistički značajnih razlika u klijavosti polena na podlogama sa 200 ppm i 400 ppm borne kiseline, dok je u 2012. godini klijavost polena bila najveća na hranljivim podlogama koje su sadržale najveću koncentraciju borne kiseline (Grafikon 25 – c).

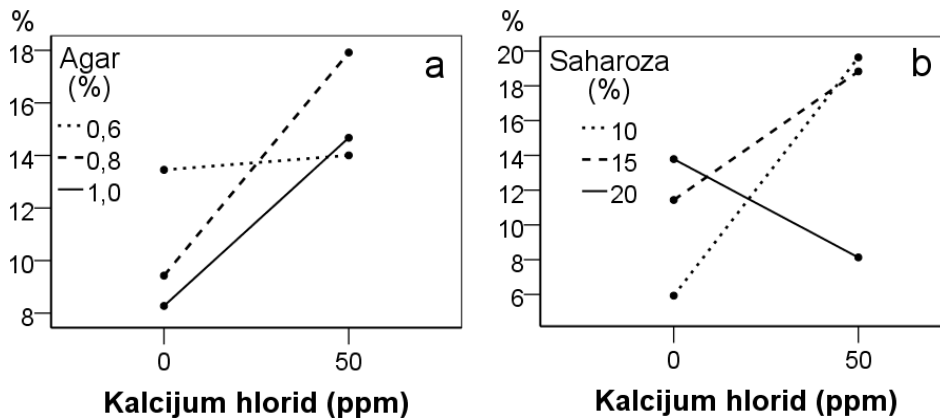


**Grafikon 25.** Uticaj interakcija između sastojaka hranljive podloge na klijavost polena oraha: a) borna kiselina × saharoza; b) borna kiselina × sorta; c) borna kiselina × godina.

U obe godine istraživanja dodavanje kalcijum hlorida u hranljive podloge uticalo je pozitivno na klijavost polena oraha. Prosečna klijavost polena na podlogama bez kalcijum hlorida iznosila je 10,4%, dok je na podlogama u koje je dodat kalcijum hlorid klijavost bila veća za oko 5% (Tabela 18). Na dodavanje kalcijum hlorida u hranljive podloge polen sorte Šampion ispoljio je slabiju pozitivnu reakciju nego polen ostalih sorti. Pri dodavanju kalcijum hlorida u hranljive podloge sa 0,6% agara povećanje klijavosti polena bilo je jedva primetno, dok je u podlogama sa 0,8% i 1% agara ono bilo znatno veće (Grafikon 26 – a). Prisustvo kalcijum hlorida u podlogama sa 10% i



15% saharoze imalo je za posledicu povećanje klijavosti polena, dok je dodavanje kalcijum hlorida u podloge sa 20% saharoze negativno uticalo na klijavost polena (Grafikon 26 – b).



**Grafikon 26.** Uticaj interakcija između sastojaka hranljive podloge na klijavost polena oraha: a) kalcijum hlorid × agar; b) kalcijum hlorid × saharoza.

Prosečna dužina polenovih cevčica sorte G251 iznosila je 164  $\mu\text{m}$ . Najveća dužina polenovih cevčica (prosečno 379  $\mu\text{m}$ ) izmerena je na podlozi koja je sadržala 0,6% agara, 15% saharoze, 200 ppm borne kiseline i 50 ppm kalcijum hlorida. Relativno visok koeficijent varijacije (24%) ukazuje da su odstupanja dužine polenovih cevčica od srednje vrednosti bila značajna. Pojedine polenove cevčice na ovoj podlozi prelazile su dužinu preko 450  $\mu\text{m}$  (Slika 26 – d,e). Na podlozi sa 1% agara i 15% saharoze, u kojoj nije bilo borne kiseline i kalcijum hlorida dužina polenovih cevčica bila je najmanja (prosečno 60  $\mu\text{m}$ ). Na dužinu polenovih cevčica sorte G251 statistički značajan uticaj imale su koncentracije svih komponenti hranljive podloge (Tabela 19). Dužina polenovih cevčica bila je veća na podlogama sa 0,6% agara nego na podlogama koje su sadržale 1% agara. Na podlogama sa 10% saharoze polenove cevčice su imale značajno veću dužinu nego na podlogama sa 20% saharoze. Razlike u dužini polenovih cevčica na podlogama sa 15% saharoze i na podlogama sa ostale dve koncentracije saharoze nisu bile statistički značajne. Dužina polenovih cevčica na podlogama bez borne kiseline bila je značajno manja nego na podlogama koje su sadržale bornu kiselinu. Između podloga sa 200 ppm i 400 ppm nije bilo statistički značajnih razlika.

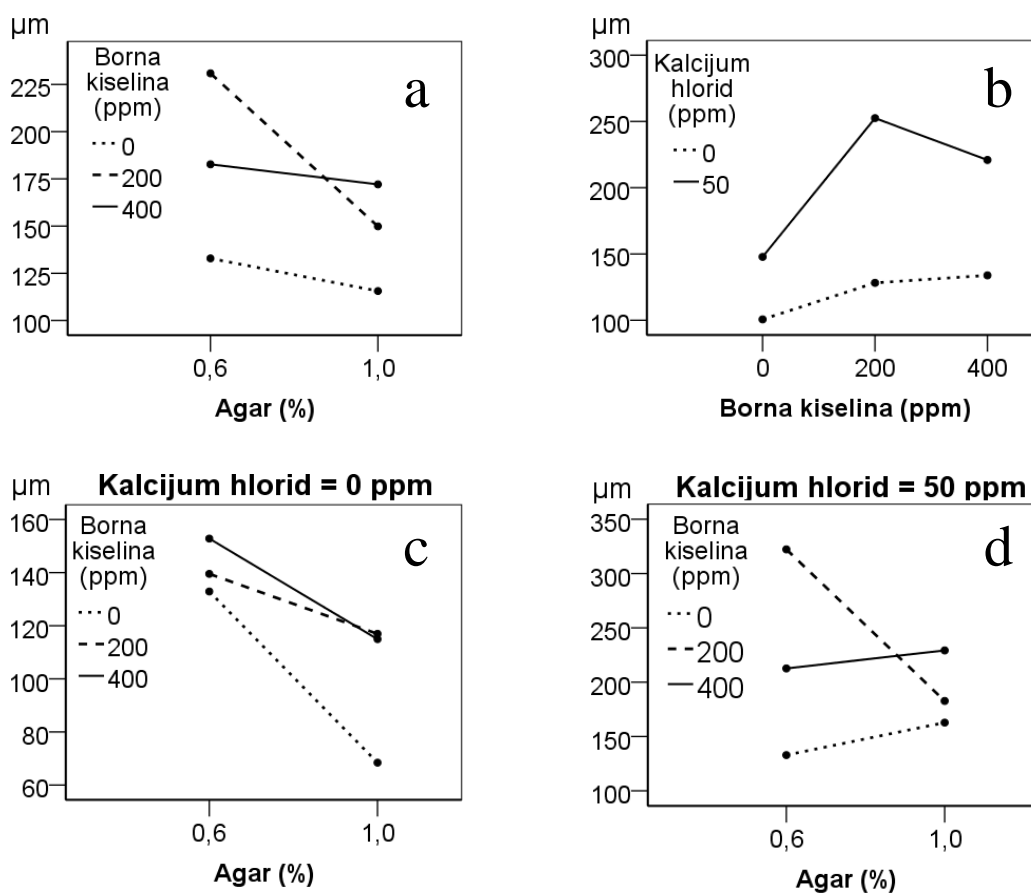
Na podlogama koje nisu sadržale bornu kiselinu uočena je češća pojava pucanja polenovih cevčica. Dužina polenovih cevčica bila je značajno veća na podlogama koje su sadržale kalcijum hlorid u odnosu na podloge bez njega. Na podlogama bez kalcijum hlorida zapažen je veliki broj raspuklih polenovih cevčica (Slika 26 – b).

**Tabela 19.** Uticaj sastava hranljive podloge na dužinu polenovih cevčica sorte G251.

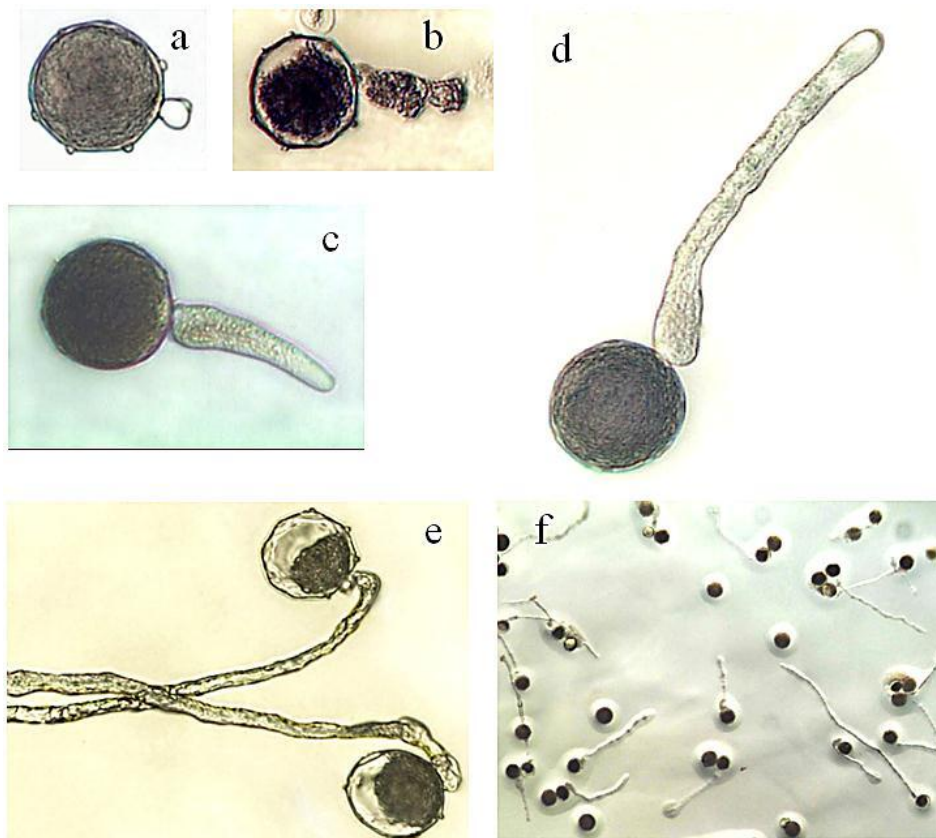
Faktori	Nivoi faktora	Dužina polenovih cevčica ( $\mu\text{m}$ )
Agar (A)	0,6 %	182 a
	1 %	146 b
Borna kiselina (B)	0 ppm	124 a
	200 ppm	190 b
	400 ppm	177 b
Kalcijum hlorid (C)	0 ppm	121 a
	50 ppm	207 b
Saharoza (D)	10 %	189 a
	15 %	166 ab
	20 %	137 b
Prosek		164
ANOVA		
Faktori		<i>p</i>
Agar (A)		0,02
Borna kiselina (B)		0,000
Kalcijum hlorid (C)		0,000
Saharoza (D)		0,001
A×B		0,021
B×C		0,02
A×B×C		0,000
A×B×C×D		0,012

Na dužinu polenovih cevčica značajan uticaj ispoljile su interakcije između sadržaja pojedinih komponenti hranljive podloge. Najveće smanjenje rasta polenovih cevčica na podlogama sa 1% agara u odnosu na podloge sa 0,6% agara utvrđeno je u kombinaciji sa 200 ppm borne kiseline (Grafikon 27 – a). U odsustvu kalcijum hlorida povećanje koncentracije borne kiseline imalo je za posledicu umereno, ali skoro linearno povećanje dužine polenovih cevčica, dok je na podlogama u kojima je bio

dotat kalcijum hlorid najveća dužina polenovih cevčica izmerena u kombinaciji sa 200 ppm borne kiseline (Grafikon 27 – b). Na podlogama bez kalcijum hlorida povećanje koncentracije agara sa 0,6% na 1% uticalo je negativno na dužinu polenovih cevčica (Grafikon 27 – c). U prisustvu kalcijum hlorida povećanje koncentracije agara u kombinaciji sa 200 ppm borne kiseline imalo je za posledicu znatno smanjenje dužine polenovih cevčica, dok je u podlogama bez borne kiseline i sa 400 ppm borne kiseline rast polenovih cevčica bio intenzivniji u prisustvu veće koncentracije agara (Grafikon 27 – c i d).



**Grafikon 27.** Uticaj interakcija između sastojaka hranljive podloge na dužinu polenovih cevčica sorte G251: a) kalcijum hlorid × agar; b) kalcijum hlorid × saharoza.



**Slika 26.** Kljanje polenovih zrna sorte G251: a) polenovo zrno sa vidljivim ispupčenjima intine kroz pore na egzini; b) polenovo zrno sa raspuklom polenovom cevčicom; c) polenovo zrno sa kratkom polenovom cevčicom (oko 60 µm); d) polenovo zrno sa srednje dugom polenovom cevčicom (oko 140 µm); e) polenova zrna sa vrlo dugim polenovim cevčicama (preko 300 µm) (u polenovim zrnima se vidi praznina koja je nastala premeštanjem dela citoplazmatičnog sadržaja u polenovu cevčicu); f) polenova zrna sa vrlo dugim polenovim cevčicama na hranljivoj podlozi.

#### 7.4.2. Uticaj temperature na klijavost polena

Temperatura je značajno uticala na klijavost polena svih ispitivanih sorti u obe godine istraživanja (Tabela 20). Najmanja klijavost utvrđena je na 12°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ), ali je kod svih sorti i na toj temperaturi utvrđena izvesna klijavost polena. Najslabiju klijavost na 12°C ispoljio je polen sorte G139 (2,4% u 2012. godini i 5,8% u 2013). Najveću klijavost na 12°C u 2012. godini imao je polen sorte Elit (12,1%), a u 2013. godini polen sorte G251 (14,9%). Na temperaturi 12°C utvrđena je slaba korelacija klijavosti polena sa vremenom cvetanja sorti ( $r = 0,06$ ).

**Tabela 20.** Uticaj temperature na klijavost polena.

Sorta	Temperatura (°C)	Klijavost polena (%)	
		2012	2013
Šampion	12±1	6,9	12,0
	17±1	20,0	36,3
	22±1	30,0	52,1
	27±1	29,2	49,7
	32±1	17,9	22,2
Šejново	12±1	8,7	12,1
	17±1	30,7	37,9
	22±1	38,0	49,4
	27±1	32,8	45,0
	32±1	21,1	35,7
G139	12±1	2,4	5,8
	17±1	12,5	17,7
	22±1	29,9	31,7
	27±1	32,6	33,7
	32±1	13,9	11,0
G251	12±1	10,0	14,9
	17±1	17,8	24,0
	22±1	28,9	39,6
	27±1	31,4	40,4
	32±1	23,1	33,5
Elit	12±1	12,1	13,1
	17±1	20,8	28,0
	22±1	37,0	46,1
	27±1	38,8	52,7
	32±1	20,1	29,3

Faktori	Nivoi faktora	Klijavost polena (%)
Temperatura (A)	12±1°C	9,0 a
	17±1°C	26,8 b
	22±1°C	39,7 c
	27±1°C	39,1 c
	32±1°C	24,1 b
Sorta (B)	Šampion	26,0 a
	Šejново	30,6 b
	G139	18,8 c
	G251	30,8 b
	Elit	32,7 b
Godina (C)	2012 a	23,9 a
	2013 b	31,5 b
ANOVA		
Faktori	<i>p</i>	
Temperatura (A)	0,000	
Sorta (B)	0,000	
Godina (C)	0,000	
A × B	0,000	
A × C	0,001	
B × C	0,000	
A × B × C	0,027	

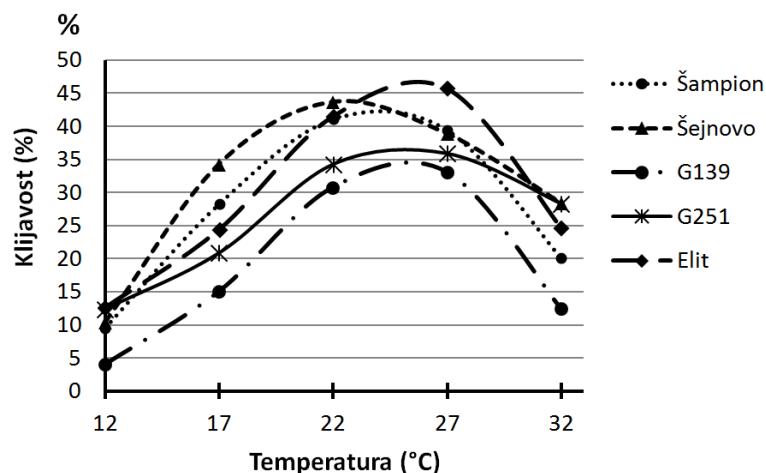
Sa povećanjem temperature rasla je klijavost polena kod svih sorti (Tabela 20). Polen sorti Šampion i Šejново u obe godine u kojima je vršen ogled pokazao je najveću klijavost na 22°C (±1°C), dok je polen sorti G139, G251 i Elit u obe godine najbolje klijavao na 27°C (±1°C). Povećanje temperature na 32°C (±1°C) uticalo je negativno na klijavost polena kod svih sorti.

Polen sorte G251 je ispoljio znatno slabiju prosečnu klijavost od polena ostalih sorti u obe godine. Klijavost polena svih sorti bila je veća u 2013. godini nego u 2012. godini.

**Tabela 21.** Uticaj temperature (T) na klijavost polena, prikazan matematičkim modelom:  $T_{opt}$  – optimalne temperature za klijanje polena (vrednosti argumenta T za koje prilagođene funkcije imaju maksimum);  $R^2$  – koeficijent determinacije.

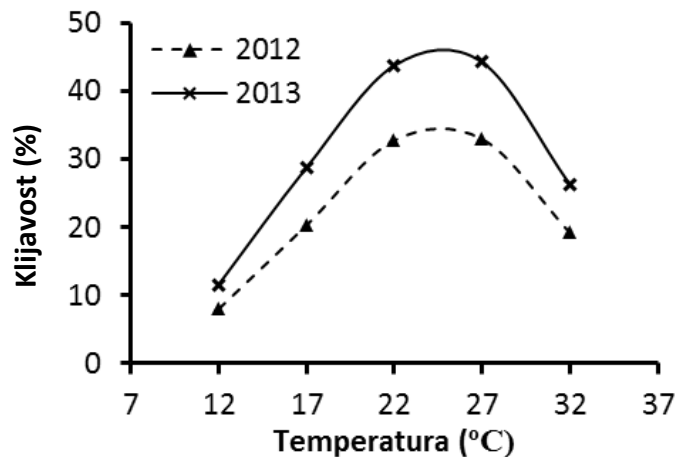
Sorta	Prilagođene funkcije	$T_{opt}$ (°C)	$R^2$ *	Početak prašenja resa
2012				
Šampion	$Y_1 = -0.0049T^3 + 0.1559T^2 + 1.3476T - 23.2725;$	24.9	0.912	21.04.
Šejново	$Y_2 = -0.0054T^3 + 0.5848T^2 + 17.9679T - 132.0932;$	22.2	0.970	18.04.
G139	$Y_3 = -0.0190T^3 + 1.0474T^2 - 16.0205T + 76.3967;$	25.9	0.934	04.05.
G251	$Y_4 = -0.0094T^3 + 0.5044T^2 - 6.9498T + 36.8972;$	26.5	0.753	02.05.
Elit	$Y_5 = -0.0187T^3 + 1.0375T^2 - 16.2106T + 89.3608;$	25.8	0.876	06.05.
2013				
Šampion	$Y_6 = -0.0110T^3 + 0.3766T^2 + 0.9800T - 35.0517$	24.1	0.990	16. 04.
Šejново	$Y_7 = 0.0061T^3 - 0.6508T^2 + 20.2929T - 148.4450$	23.1	0.973	14. 04.
G139	$Y_8 = -0.0179T^3 + 0.9492T^2 - 13.7445T + 64.9687$	25.2	0.946	03.05.
G251	$Y_9 = -0.0094T^3 + 0.4877T^2 - 5.9045T + 31.3669$	26.8	0.827	01.05.
Elit	$Y_{10} = -0.0220T^3 + 1.2039T^2 - 17.9447T + 93.1968$	26.0	0.908	06.05.

Od svih ispitivanih linearnih i nelinearnih modela regresije kubna funkcija bila je najpogodnija za prikazivanje uticaja temperature na klijavost polena, pa je ona korišćena za procenu optimalnih temperatura za klijanje polena ispitivanih sorti u obe godine istraživanja (Tabela 21, Grafikon 28 i grafikon 29).



**Grafikon 28.** Uticaj temperature na klijavost polena pet sorti oraha prikazan u vidu grafika prilagođenih kubnih funkcija, zasnovanih na prosečnim vrednostima za dve godine istraživanja.

Između vrednosti optimalnih temperatura za klijanje polena, izračunatih na osnovu prilagođenih jednačina, i vremena punog cvetanja ispitivanih sorti utvrđena je jaka pozitivna korelacija ( $r = 0,83^{**}$ ).



**Grafikon 29.** Uticaj temperature na klijavost polena oraha prikazan u vidu grafika prilagođenih kubnih funkcija, zasnovanih na prosečnim vrednostima pet ispitivanih sorti u dve godine istraživanja (2012-2013).

#### 7.4.3. Uticaj vremena i uslova skladištenja na klijavost polena

Na klijavost polena oraha statistički značajan uticaj ispoljili su godina, sorta, vreme čuvanja polena, temperatura čuvanja polena i stanje hidratisanosti polena pre naklijavanja (Tabela 22).

U 2011. godini prosečna klijavost polena svih sorti bila je veća nego u 2012. godini. Iako je analizom varijanse utvrđeno da je uticaj godine na klijavost polena, kao i na delovanje ostalih faktora bio značajan, značaj ovog faktora nije suštinski izmenio funkcionalnu vezu između ostalih faktora, pa su rezultati istraživanja uticaja sorte, temperature, vremena čuvanja i stepena hidratacije polena, zbog jednostavnosti, prikazani kao dvogodišnji prosek.

**Tabela 22.** Uticaj vremena i uslova čuvanja polena na njegovu klijavost (%).

Faktori	Nivoi faktora	Klijavost
Godina (A)	2011	23,6 a
	2012	20,3 b
Sorta (B)	Šampion	27,4 a
	Šejново	22,5 b
	G139	14,3 c
	G251	19,3 d
	Elit	26,2 a
Vreme čuvanja polena (C)	svež polen	44,1 a
	1 dan	32,7 b
	2 dana	25,8 c
	4 dana	19,6 d
	12 dana	8,3 e
	36 dana	1,1 f
Temperatura čuvanja polena (D)	4°C	25,3 a
	20°C	18,6 b
Hidratisanost polena pre naklijavanja (E)	bez rehidracije	14,7 a
	sa rehidracijom	29,2 b
Prosek		21,9
ANOVA		
Faktori		<i>p</i> *
A		0,000
B		0,000
C		0,000
D		0,000
E		0,000
A×B, A×C, B×C, B×D, B×E, C×D, C×E		0,000
A×D,		0,008
A×E		0,023
A×B×C, A×B×E, B×C×D, B×C×E, C×D×E		0,000
B×D×E		0,041
A×B×C×E		0,017
B×C×D×E		0,000

\*U tabeli nisu prikazane interakcije koje nisu bile statistički značajne za verovatnoću  $p > 0,05$ .

U obe godine istraživanja produženje vremena čuvanja polena uticalo je negativno na njegovu klijavost (Tabela 22 i 23). U varijanti ogleda gde nije vršena rehidracija polena pre naklijavanja, posle jednog dana čuvanja na 20°C prosečna klijavost polena sa 44,1% (koliko je bilo utvrđeno kod svežeg polena) bila je smanjena na 30,5%, posle dva dana na 5,4%, a posle četiri dana na svega 1%, pri čemu je najmanja klijavost posle četiri dana utvrđena kod polena sorte G139 (0%), a najveća kod polena sorte Šejново (1,9%) (Tabela 23).



**Tabela 23.** Uticaj dužine čuvanja, temperature čuvanja i rehidracije polena pre naklijavanja na klijavost polena pet sorti oraha.

Sorta	Vreme čuvanja (dani)	Temperatura čuvanja (°C)	Klijavost polena (%)			Svež polen
			Bez rehidracije	Sa rehidracijom	Polen čuvan u eksikatoru i rehidratiran	
Šampion	2	20	1,7 ± 1,1	43,2 ± 7,3	-	53,5 ± 10,9
		4	31,9 ± 8,7	48,2 ± 8,9	-	
	4	20	0,4 ± 0,8	37,0 ± 8,3	-	
		4	5,6 ± 1,9	45,5 ± 7,8	-	
	12	20	0	1,5 ± 0,5	-	
		4	0,8 ± 0,5	34,0 ± 4,5	-	
	36	-18	-	-	29,3 ± 6,3	
	Šejnovno	2	20	10,7 ± 3,4	34,0 ± 8,3	
4			31,3 ± 8,7	38,0 ± 8,7	-	
4		20	1,9 ± 1,5	30,0 ± 7,3	-	
		4	10,5 ± 8,7	34,7 ± 8,8	-	
12		20	0	0	-	
		4	2,7 ± 2,9	28,2 ± 6,6	-	
36		-18	-	-	34,7 ± 1,4	
G139		2	20	2,6 ± 2,1	25,5 ± 2,8	-
	4		12,7 ± 2,0	27,1 ± 2,4	-	
	4	20	0	0	-	
		4	5,6 ± 1,7	25,2 ± 3,0	-	
	12	20	0	0	-	
		4	0,1 ± 0,2	15,2 ± 1,7	-	
	36	-18	-	-	4,2 ± 1,7	
	G251	2	20	7,3 ± 2,7	33,3 ± 3,9	-
4			17,3 ± 4,2	35,0 ± 5,0	-	
4		20	1,4 ± 0,5	28,0 ± 3,6	-	
		4	7,8 ± 2,9	33,5 ± 4,0	-	
12		20	0	0	-	
		4	5,0 ± 1,8	23,7 ± 1,4	-	
36		-18	-	-	31,7 ± 3,2	
Elit		2	20	5,0 ± 0,9	47,7 ± 6,0	-
	4		14,0 ± 2,8	49,5 ± 2,5	-	
	4	20	1,3 ± 0,4	42,7 ± 5,0	-	
		4	11,0 ± 2,4	48,7 ± 1,9	-	
	12	20	0	0	-	
		4	7,7 ± 2,2	43,3 ± 2,3	-	
	36	-18	-	-	29,0 ± 3,2	

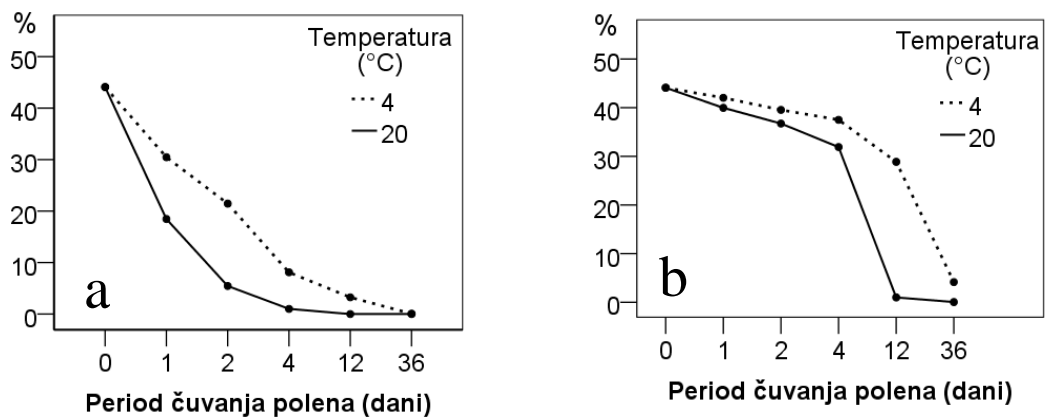
Posle četiri dana čuvanja na sobnoj temperaturi, polen sorte G139 potpuno je izgubio klijavost. Smanjenje klijavosti posle četiri dana u odnosu na klijavost koju je imao svež polen iznosilo je kod sorte Šampion 98,5%, sorte Elit 97,6%, sorte G251

96,4% i sorte Šejnovo 95,7%. Prosečna klijavost polena koji je čuvan jedan dan na 4°C iznosila je u odnosu na klijavost svežeg polena 69,2%, posle dva dana 48,8%, posle četiri dana 18,4% i posle 12 dana 7,3%. Najmanju klijavost posle četiri dana čuvanja na temperaturi 4°C imao je polen sorti Šampion i G139 (5,6%), a najveću polen sorte Elit (11%). Posle 12 dana čuvanja na 4°C klijavost polena sorte G139 bila je 0,1%, sorte Šampion 0,8%, sorte Šejnovo 2,7%, G251 5% i sorte Elit 7,7% (Tabela 23). Posle 12 dana čuvanja na temperaturi 4°C smanjenje klijavosti u odnosu na klijavost koju je imao svež polen bilo je najveće kod polena sorte G139 (99,7%), zatim kod sorte Šampion (99,3%), Šejnovo (93,8%), G251 (87,1%) i najmanje kod sorte Elit (86,9%). Posle 36 dana čuvanja na 20°C klijavost polena svih sorti bila je jednaka nuli. Posle 36 dana čuvanja na 4°C polen nije klijavao ako nije bio hidratisan pre naklijavanja.

Klijavost polena koji je pre naklijavanja rehidratisan iznosila je kod sorte Šampion 8,6%, Šejnovo 5,5%, G139 1,7%, G251 1,6% i kod sorte Elit 3,4%. Hidratizacija polena pre naklijavanja imala je statistički značajan uticaj na klijavost polena svih sorti, na svim temperaturama čuvanja. Polen koji je pre naklijavanja hidratisan imao je približno duplo veću prosečnu klijavost nego polen kod kojeg nije vršena hidratacija (Tabela 22 i Grafikon 30).

Prosečna klijavost polena čuvanog četiri dana na 20°C koji nije hidratisan pre naklijavanja iznosila je 1%, a kod polena kod kojeg je izvršena hidratacija 32%. Posle 12 dana čuvanja na 4°C u varijanti oglada bez hidratacije prosečna klijavost polena bila je 3,2%, dok je posle hidratacije iznosila 28,9%.

Klijavost polena, čuvanog 36 dana na temperaturi -18°C u hermetički zatvorenim sudovima sa zasićenim rastvorom kalcijum hlorida, koji je rehidratisan pre naklijavanja, bila je najveća kod sorte Šejnovo (34,7%), a najmanja kod sorte G139 (4,2%) (Tabela 23). U odnosu na klijavost svežeg polena, klijavost polena čuvanog u navedenim uslovima bila je najbolje očuvana kod sorte G251 (81,7% klijavosti svežeg polena), zatim slede sorte Šejnovo (79,4%), Šampion (54,8%), Elit (53%) i G139 (14,1%). Posle 365 dana čuvanja u navedenim uslovima klijavost polena svih sorti bila je jednaka nuli.



**Grafikon 30.** Uticaj temperature i načina čuvanja na klijavost polena: a) naklijavanje polena bez prethodne rehidracije; b) naklijavanje polena uz prethodnu rehidraciju.

## 8. DISKUSIJA

### 8.1. Morfološke karakteristike jednogodišnjih grančica

#### 8.1.1. Debljina grančica

Ukupna prosečna debljina grančica dobijena u našim istraživanjima (8,41 mm) saglasna je sa rezultatima koje su naveli Solar i Štampar (2003), prema kojima je prečnik osnove letorasta kod 840 sejanaca oraha, gajenih u Sloveniji, imao vrednosti od 7,9 mm do 10,1 mm. Kelc *et al.* (2010), takođe u Sloveniji, dobili su da je prosečna debljina osnove letorasta kod tri sorte oraha iznosila od 11,4 mm, do 11,8 mm. Razlike između rezultata koje su prikazali Kelc *et al.* (2010) i rezultata u našem radu posledica su genotipskih specifičnosti, različitih agroekoloških uslova u kojima su stabla gajena, različite starosti stabala i različite metodologije uzimanja uzoraka. U našem radu bile su zastupljene grančice različite razvijenosti, dok kod sedmogodišnjih stabala koja su u svom ogledu koristili Solar i Štampar (2003) i Kelc *et al.* (2010) po pravilu dominiraju razvijenije grančice.

Veća debljina grančica u 2010. godini nego u 2012. godini posledica je intenzivnijeg vegetativnog rasta mladara u toku 2010. godini, što je bilo uslovljeno različitim hidrološkim uslovima u ovim godinama. Ukupna količina padavina u 2010. godini, kao i u periodu vegetacije, bila je veća za preko 60 mm u odnosu na tridesetogodišnji prosek za Kraljevo, dok je količina padavina u 2012. godini bila za 143 mm manja od prosečnih vrednosti, sa naročito izraženim vodnim deficitom u letnjim mesecima. Pored toga, jak vodni deficit postojao je i u 2011. godini, tako da se rast mladara u 2012. godini odvijao u uslovima niskih rezervi vode u zemljištu. Prema Miloševiću (1987) agroekološki uslovi su značajno uticali na debljinu letorasta šljive, a Kelc *et al.* (2010) navode da je u godini sa ekstremno toplim i sušnim prolećem i letom kod svih ispitivanih sorti oraha debljina letorasta bila smanjena.

Uticaj genotipa na debljinu grančica je bio vrlo visoko značajan, što je u skladu sa rezultatima drugih autora koji su ispitivali ovu problematiku kod različitih vrsta voćaka. Tako, na primer, podatke koji ukazuju na postojanje genotipskih specifičnosti u pogledu debljine grančica navode Milošević (1993) kod šljive, Ljubojević i sar. (2011) u populaciji Oblačinske višnje i Milatović i sar. (2014) kod kajsije. Među ispitivanim

genotipovima oraha najveći prečnik grančica bio je kod sorte Elit, što se ne može objasniti bujnošću sorte, jer je Korać (1987) većinu sorti koje su ispitivane u ovom radu svrstao u grupu srednje bujnih, a sortu Elit u slabo bujne sorte. Solar *et al.* (2005) izneli su podatak da je kod sorte Elit, u zavisnosti od godine, prečnik letorasta iznosio od 7,5 mm do 10,4 mm, što je u skladu sa rezultatima u našem radu. Prema Ducouso *et al.* (1995), genotipovi oraha koji pripadaju terminalnom tipu rađanja odlikuju se većom vegetativnom snagom rasta nego genotipovi sa prelaznim i lateralnim tipom rađanja. Solar *et al.* (2004) utvrdili su, međutim, da su najveću vegetativnu aktivnost u populaciji slobodno gajenih sejanaca oraha imali genotipovi sa prelaznim tipom rađanja. Njihove rodne grančice bile su za 33% duže nego kod sejanaca sa lateralnim tipom rađanja i za 10% duže nego kod sejanaca sa terminalnim rađanjem. Prema Ramos *et al.* (1998) debljina i dužina grančica oraha smanjuju se sa starenjem stabala, naročito kod sorti sa lateralnim tipom rađanja. Solar i Štampar (2003) ističu da kod genotipova sa prelaznim i terminalnim tipom rađanja starost stabala ima slabiji uticaj na rast mladara nego kod genotipova koji se odlikuju lateralnim tipom rađanja.

Između debljine grančica i njihove dužine utvrđena je pozitivna zavisnost srednje jačine ( $r = 0,65^{**}$ ), što je saglasno sa rezultatima drugih autora. Milošević (1993) navodi da je koeficijent korelacije između dužine i debljine grančica šljive imao vrednosti, u zavisnosti od sorte i podloge,  $r = 0,22-0,94$ , a prosečna vrednost u svakoj od godina istraživanja iznosila je  $r = 0,46$ . Autor zaključuje da je veličina koeficijenta korelacije zavisila od sorte, podloge i godine ispitivanja. Solar *et al.* (2004) navode da je prečnik letorasta kod sorte Elit bio u pozitivnoj korelaciji sa njihovom dužinom.

Na debljinu grančica značajan uticaj ispoljile su interakcije između godine, dužine grančice i tipa grančice. Kelc *et al.* (2010), ispitujući uticaj temperature i količine padavina na debljinu letorasta tri sorte oraha, uočili su prisustvo interakcije između godine i genotipa. Autori su zaključili da su ekološki uslovi u sve tri godine istraživanja uticali značajno na debljinu letorasta sorte Franquette, dok je debljina letorasta sorti Fernor i Zdole-59 znatno manje varirala po godinama.

Indeks izduženosti predstavlja rezultat aktivnosti apikalnog meristema mladara i sekundarnih bočnih meristema – kambijuma i felogena. Iako su temperaturni i hidrološki uslovi u 2010, 2011. i 2012. godini bilo dosta različiti, godina nije ispoljila

statistički značajan uticaj na indeks izduženosti grančica. Razlog tome je uravnoteženo delovanje klimatskih faktora na rast u dužinu i sekundarno debljanje mladara.

Između grančica kraćih od 6 cm i srednje dugih grančica (8-18 cm) razlike u indeksu izduženosti nisu bile značajne, dok je kod grančica dužih od 20 cm on bio duplo veći nego kod prethodne dve kategorije grančica. Prema Puntieri *et al.* (2000), izduženi prirasti su manje tolerantni na stres izazvan nepovoljnim klimatskim faktorima jer je protok rezervnih materija i asimilativa kroz sprovodna tkiva slabiji nego kod prirasta sa manjim indeksom izduženosti. Ove konstatacije nisu bile potvrđene u istraživanjima koje su sproveli Kelc *et al.* (2010), koji navode da je sorta Franquette, koja se odlikuje velikim indeksom izduženosti letorasta, u trogodišnjim ogledima ispoljila dobar rodni potencijal.

U našem radu ispoljene su značajne genotipske razlike u pogledu indeksa izduženosti grančica. Kod sorte Šampion on je bio najveći (14,0, a kod sorte Elit bio je manji za 1,8). Kelc *et al.* (2010) utvrdili su najveći indeks izduženosti kod sorte Franquette (27), koji pripada terminalnom tipu rađanja, dok je kod sorte Fernor, koja se odlikuje lateralnim tipom rađanja, on iznosio 18. Veliki indeks izduženosti karakterističan je za sorte oraha sa terminalnim tipom rađanja (Germain, 1990). Prema Bellu (1991) genotipovi sa jako izraženom akrotonijom imaju duge mladare, jer se kod njih rast u dužinu obavlja uglavnom aktivnošću apikalnog meristema. Veći indeks izduženosti grančica koji su dobili Kelc *et al.* (2010) u odnosu na rezultate prikazane u ovom radu najverovatnije je posledica razlika u bujnosti sorti, starosti eksperimentalnih stabala, agroekološkim uslovima i metodologiji uzimanja uzoraka grančica.

Veći indeks izduženosti letorasta u odnosu na plodonosne priraste posledica je odsustva apikalnog meristema na plodonosnim mladarima i njihovog organičenog rasta u dužinu. Umesto apikalnog meristema, na vrhovima plodonosnih mladara nalaze se ženske cvasti, a formiranje novih prirasta vrši se iz subterminalnih vegetativnih kupa koje se diferenciraju u pazusima listova plodonosnog mladara (Bell, 1991, Mičić, 1992; Ducouso *et al.*, 1995; Sabatier i Barthélémy, 2001).

### **8.1.2. Broj nodusa na grančicama**

Ukupan prosečan broj nodusa na grančicama, koji je iznosio 8,48, u skladu je sa vrednostima koje su dobili Solar i Štampar (2003) u populaciji od 840 sejanaca, koje su

se kretale od 6,9 do 9,3. Između dužine grančice i broja nodusa utvrđena je srednje jaka pozitivna zavisnost ( $r = 0,61^{**}$ ). Solar i Štampar (2003), kao i Solar *et al.* (2004) utvrdili su takođe tesnu povezanost između ova dva parametra u populaciji spontanih sejanaca oraha.

Jaka pozitivna zavisnost između broja nodusa na grančici i debljine grančice ( $r = 0,751^{**}$ ) proizilazi iz veće fotosintetske aktivnosti mladara sa većim brojem nodusa, odnosno listova. Mladari sa većom lisnom površinom stvaraju veću količinu asimilativa, omogućavajući na taj način intenzivnije procese sekundarnog debljanja mladara (Kelc *et al.*, 2010).

Grančice dužine preko 20 cm, iako su bile približno četiri puta duže od grančica dužine do 6 cm, imale su u proseku svega tri nodusa više. Iz navedenog sledi zaključak da na dužinu grančica više utiče dužina internodija nego njihov broj, što je u skladu sa konstatacijom koju je izneo Pallardy (2008) da je dužina mladara u najvećoj meri rezultat izduživanja internodija. Bland (1978) je utvrdio da između dugih i kratkih letorasta jabuke ne postoje značajne razlike u broju internodija, već u dužini internodija. Webster (2005) smatra da razlike u dužini internodija nastaju prvenstveno kao posledica različitog broja ćelija u internodijama, a ne zbog različite dužine ćelija. Veći broj ćelija u dugim internodijama posledica je dužeg trajanja faze deobe ćelija u dugim internodijama u odnosu na kratke internodije. Ripeti *et al.* (2008) su utvrdili da je uticaj genotipa na dužinu internodija jabuke bio mnogo više ispoljen preko broja ćelija u internodijama nego preko dužine ćelija. Brown i Sommer (1992) navode da se u toku procesa rasta i razvoja internodija dužina njihovih ćelija povećava 2-3 puta, a broj ćelija 10-30 puta, što ukazuje na dominantnu ulogu deobe ćelija i povećanja broja ćelija na konačnu dužinu internodija.

U 2010. godini grančice su imale značajno veći broj nodusa nego u 2012. godini, dok u odnosu na 2011. godinu, ove razlike nisu bile značajne. Kod razvijenih stabala oraha većina letorasta predstavlja monociklične priraste (Sabatier i Barthélémy, 2001), čiji se organi razvijaju uglavnom od primordija koje su već zametnute u zimskom pupoljku (Barthélémy *et al.*, 1995). Zbog toga, broj nodusa na monocikličnim prirastima zavisi, ne samo od uslova koji vladaju u godini njihovog razvoja, već i od delovanja ekoloških faktora u godini u kojoj je tekla diferencijacija pupoljaka u kojima su ovi prirasti začeti. Spann *et al.* (2007) zaključili su da se kod starijih stabala pistacije

većina jednogodišnjih prirasta formira sa brojem nodusa koji je već bio diferenciran u zimskom pupoljku, dok je kod mladih stabala prisutan veći broj prirasta sa nodusima koji su diferencirani tek posle otvaranja zimskog pupoljka. U proleće i leto 2009. godine temperaturni i hidrološki uslovi bili su povoljni za rast i razvoj mladara oraha i diferencijaciju njihovih pupoljaka, što se pozitivno odrazilo na broj nodusa na grančicama u 2010. godini. U 2011. godini je posle kišovitog proleća, sa velikim brojem oblačnih dana, u letnjim mesecima nastupila jaka suša, pa su ekološki uslovi za diferencijaciju pupoljaka bili manje povoljni nego u 2010. godini. To je imalo negativan efekat na broj nodusa na grančicama u 2012. godini, koja je i sama bila nepovoljna za rast mladara usled velikog vodnog deficita i visokih temperatura u letnjim mesecima.

Genotip je imao statistički značajan uticaj na broj nodusa po grančici, što su takođe otkrili u svojim radovima Gordon *et al.* (2006) kod breskve i Solar i Štampar (2003) kod oraha. Solar i Štampar (2003) su kod genotipova sa terminalnim tipom rađanja utvrdili najmanji broj nodusa po letorastu (6,9), dok je kod akrotoničnih genotipova sa prelaznim tipom rađanja broj nodusa po letorastu bio najveći (9,3).

Letorasti su imali prosečno 0,6 nodusa manje nego plodonosni prirasti. Naročito je interesantna razlika u minimalnom broju nodusa između letorasta i plodonosnih prirasta: svega 0,74% analiziranih plodonosnih prirasta imalo je manje od šest nodusa, dok je udeo letorasta sa manje od šest nodusa bio oko sedam puta veći (5,20%). Ovaj podatak navodi na zaključak da broj diferenciranih nodusa na osovini budućeg mešovitog pupoljka predstavlja kritičan faktor započinjanja diferencijacije ženskih cvasti. Kod mnogih voćaka dokazano je da prelaz apikalnog meristema iz vegetativne faze u generativnu fazu razvitka nastupa tek pošto je na osovini pupoljka diferenciran dovoljan broj nodusa (Dennis, 1986). Abbott (1977) navodi da je u pupoljcima jabuke neophodno da se formira 20-24 nodusa pre nego što započne diferencijacija cvetova. Kod voćaka izražene vegetativne snage rasta optimalni broj nodusa biva prevaziđen, a ako je snaga rasta previše slaba, diferencira se manji broj nodusa od optimalnog, pri čemu može doći i do izostanka diferencijacije cvetova (Dennis, 2003). Konačan broj nodusa na plodonosnim prirastima definisan je već početkom leta u godini koja prethodi razvoju mladara, kada kod većine genotipova na vrhovima konusa porasta mešovitog pupoljka započinje diferencijacija ženskih cvasti (Janković, 2002).



Na broj nodusa po grančici ispoljile su vrlo visoko značajan uticaj interakcije genotip  $\times$  dužina grančice i genotip  $\times$  dužina grančice  $\times$  tip grančice. Solar *et al.* (2005) ukazuju na značajan uticaj interakcije godina  $\times$  tip grančice na broj nodusa po grančici, navodeći da je udeo grančica sa manje od 11 nodusa kod vegetativnih i plodonosnih prirasta značajno varirao u zavisnosti od godine.

### 8.1.3. Broj i raspored mešovityh pupoljaka na grančicama

Genotipovi su se značajno razlikovali u broju mešovityh pupoljaka po grančici. Tako, na primer, kod sorte Šampion utvrđeno je prosečno svega 0,95 mešovityh pupoljaka po grančici, dok je kod sorte G139 i spontanog sejanca M1 vrednost ovog parametra iznosila oko 2. Broj mešovityh pupoljaka po letorastu bio je najmanji kod sorti Šampion (0,84) i G251 (0,94), a najveći kod sorte G139 (1,51). Ovi rezultati su saglasni sa rezultatima koje su prikazali Solar i Štampar (2003), koji su, proučavajući veliku populaciju sejanaca oraha u Sloveniji, konstatovali da se kod genotipova sa terminalnim tipom rađanja na letorastima diferencira obično samo jedan mešoviti pupoljak, kod genotipova sa prelaznim tipom rađanja 1,1-1,2, pupoljka, a kod genotipova sa lateralnim tipom rađanja 1,7 mešovityh pupoljaka. Kelc *et al.* (2010) su utvrdili da sorta Franquette ima prosečno 1,8 mešovityh pupoljaka po letorastu, sorta Zdole-59 1,5, a sorta Fernor 2,0.

Povoljniji temperaturni i hidrološki uslovi za diferencijaciju mešovityh pupoljaka u 2009. godini u odnosu na 2011. godinu imali su za posledicu veći broj ovih pupoljaka na grančicama u 2010. nego u 2012. godini. Pored toga, utvrđeno je da je broj mešovityh pupoljaka po grančici u srednje jakoj pozitivnoj korelaciji sa brojem nodusa po grančici i sa debljinom grančice, a u jakoj korelaciji sa brojem mešovityh pupoljaka po nodusu. Najveći broj mešovityh pupoljaka po grančici utvrđen je u 2010. godini, a najmanji u 2012. godini, što se podudara sa najvećim i najmanjim vrednostima za broj nodusa po grančici i debljinu grančice. Kelc *et al.* (2010) navode da je velika suša u 2003. godini imala za posledicu značajno smanjenje broja mešovityh pupoljaka kod sorte Fernor u 2004. godini, što svedoči o značaju uticaja ekoloških faktora na formiranje rodnog potencijala oraha.

Na prvom nodusu na letorastima bilo je prosečno za 0,1 mešoviti pupoljak više nego na plodonosnim prirastima, dok je na drugom i trećem nodusu prosečan broj

mešovitih pupoljaka bio višestruko veći na plodonosnim prirastima u odnosu na letoraste. Ovi podaci ukazuju na mogućnost da mladi plodovi deluju inhibitorno na indukciju cvetova u pupoljcima koji su im najbliži (pupoljci na prvom nodusu plodonosnih mladara), dok je na nižim nodusima uticaj plodova slabiji. U skladu sa ovom pretpostavkom je i činjenica da je na dužim plodonosnim prirastima bilo više mešovitih pupoljaka na vršna tri nodusa nego na kraćim. Duži prirasti imaju duže internodije, tako da su kod njih nodusi udaljeniji od plodova koji mogu da utiču negativno na formiranje rodnih pupoljaka. Postoje brojni dokazi da prisustvo plodova može da inhibira diferencijaciju rodnih pupoljaka za sledeću godinu na rodnim kolačima jabuke (Chan i Cain, 1967; Landsberg, 1979; Nielsen i Dennis, 2000) i kruške (Huet, 1973). Neilsen i Dennis (2000) utvrdili su da je u terminalnim pupoljcima mladara dužine preko 16 mm na rodnim kolačima jabuke bila normalno izvršena diferencijacija cvetova, bez obzira na broj semenki u zametnutim plodovima, dok je u terminalnim pupoljcima mladara koji su bili kraći od 2 mm izostalo formiranje cvetova. Autori su zaključili da broj semenki na rodnom kolaču i udaljenost semenki od pupoljaka predstavljaju važne faktore negativne korelacije koju semenke ispoljavaju na zametanje cvetova u potencijalnim rodnim pupoljcima jabuke. Fulford (1966c) smatra da je inhibitorno delovanje semenki na inicijaciju cvetova povezano sa usporenim rastom pupoljaka. Izadyar (1997) je otkrio da se na rodnim kolačima jabuke intenzivnije diferenciraju provodni sudovi prema peteljka plodova nego prema vegetativnim pupoljcima.

Kod svih ispitivanih genotipova ukupan broj mešovitih pupoljaka, kao i broj lateralnih mešovitih pupoljaka bio je veći na plodonosnim prirastima nego na letorastima. Rodni letorasti oraha nastaju od mladara, koji posle perioda intenzivnog rasta krajem proleća i početkom leta zaustavljaju terminalni rast i na svom vrhu formiraju začetke ženskih cvasti (Mičić, 1992). Na plodonosnim mladarima, usled odsustva apikalnog meristema, rast se nastavlja simpodijalno, najčešće iz 1-3 lateralne vegetativne kupe koje se nalaze neposredno ispod ženske cvasti (Bell, 1991, Sabatier i Barthélémy, 2001). Broj nodusa kod plodonosnih prirasta bio je u proseku za 0,6 veći, a indeks izduženosti za dva manji nego kod letorasta, što sugeriše zaključak da su mladari iz vegetativnih pupoljaka imali duže internodije nego mladari iz mešovitih pupoljaka. Veći broj nodusa, kraće internodije, veći prečnik i veća lisna površina na mladarima

predstavljaju faktore koji su u pozitivnoj korelaciji sa brojem diferenciranih mešoviti pupoljaka na grančici. Na značaj lisne površine mladara kao izvor asimilativa za vegetativnu i reproduktivnu aktivnost mladara oraha ukazali su Kelc *et al.* (2007).

Iako je broj diferenciranih pupoljaka na svakom od tri vršna nodusa bio pod značajnim uticajem genotipa, dužine grančice i tipa grančice, a u nekim slučajevima i godine, kod svih ispitivanih genotipova, bez obzira na tip i dužinu grančice, najveći broj mešoviti pupoljaka nalazio se na vršnom nodusu, dok se prema osnovi grančice njihov broj naglo smanjivao. Kod većine genotipova (Šampion, G251, Šejново i Elit) udeo lateralnih mešoviti pupoljaka na letorastima bio je manji od 10%, tako da prema Dzhuvinovu i Gandevu (2014) ove sorte pripadaju terminalnom tipu rađanja. Na letorastima spontanog sejanca M1 i sorte G139 bilo je približno 12-13% lateralnih pupoljaka, tako da se oni mogu svrstati u prelazni tip rađanja. Dzhuvinov i Gandev (2014) su kod sorte Šejново utvrdili 25% lateralnih mešoviti pupoljaka i svrstali je prema tipu rađanja u grupu prelaznih sorti. Gološin i sar. (2005) su na osnovu trinaestogodišnjih istraživanja utvrdili da se kod sorte Šejново formira 10-15% lateralnih mešoviti pupoljaka, dok je kod sorte Šampion udeo lateralnih mešoviti pupoljaka iznosio 5-10%. Prema izveštaju Francuskog nacionalnog instituta za istraživanja u poljoprivredi (Germain, 2004), sorte Šejново, G251 i G139 pripadaju terminalnom tipu rađanja, dok u istoj publikaciji, prema izveštaju Biotehničkog fakulteta Univerziteta u Ljubljani, sorta G139 pripada prelaznom tipu rađanja, a sorta Elit lateralnom. Solar *et al.* (2005) su u trogodišnjem periodu istraživanja kod sorte Elit u 2001. i 2003. godini uočili da je broj lateralnih rodni pupoljaka bio manji od 10%, dok je u 2002. godini jedna trećina letorasta nosila plodove na lateralnoj poziciji.

Duže grančice su imale veći broj mešoviti pupoljaka nego kraće. Duže grančice imaju veći broj nodusa i prečnik, a između ova dva navedena parametra i broja mešoviti pupoljaka po grančici postoji srednje jaka pozitivna korelacija.

Na broj mešoviti pupoljaka po grančici značajan uticaj imale su različite interakcije između faktora, među kojima veliki praktičan značaj ima interakcija genotip  $\times$  godina. U trogodišnjem periodu najmanje oscilacija u broju mešoviti pupoljaka po grančici među ispitivanim genotipovima ispoljio je spontani sejanac M1, dok je kod sorte G251 uočena velika osetljivost na visoke temperature i smanjenu vlažnost vazduha i zemljišta. Osim što je broj mešoviti pupoljaka po grančici sa 1,9, koliko je bilo

ustanovljeno u 2010. godini, bio smanjen na 1,3 u 2012, pronađen je kod ove sorte i veliki broj smežuranih plodova, kao posledica jake suše i visokih temperatura u toku letnjih meseci. Kelc *et al.* (2010) navode da su kod sorte Zdole-59 u prvoj godini istraživanja utvrdili 2,2 mešovita pupoljka po letorastu, dok je u sledeće dve godine broj mešovityh pupoljaka bio duplo manji. Istovremeno, kod sorte Franquette autori nisu uočili značajne razlike u vrednosti ovog parametra između godina. McGranahan i Leslie (2012) došli su do zaključka da formiranje i ostvarivanje rodnog potencijala stabala oraha u velikoj meri zavise od ekoloških uslova. Solar *et al.* (2005) nisu uspeli da precizno definišu tip rađanja kod sorte Elit u toku trogodišnjeg perioda istraživanja, pošto je pod uticajem različitih ekoloških uslova udeo lateralnih mešovityh pupoljaka varirao između godina i do 30%. Kelc *et al.* (2010) su zaključili da je u zasadima sorti koje pojačano reaguju na nepovoljno dejstvo faktora spoljašnje sredine, u cilju formiranja i ostvarenja njihovog visokog rodnog potencijala, neophodno obezbediti što povoljnije agroekološke uslove, misleći pritom prvenstveno na navodnjavanje.

Srednje jaka pozitivna korelacija broja mešovityh pupoljaka po nodusu sa brojem mešovityh pupoljaka na prvom, drugom i trećem nodusu grančice i vrlo jaka pozitivna korelacija sa brojem mešovityh pupoljaka po grančici očekivani su i proizilaze iz formule za izračunavanje ovog parametra (izračunava se kao količnik broja mešovityh pupoljaka i broja nodusa na grančici). Sa povećanjem vrednosti broja mešovityh pupoljaka raste i njihov broj po nodusu. Iako se prema navedenoj formuli sa povećanjem broja nodusa na grančici smanjuje broj mešovityh pupoljaka po nodusu, između broja nodusa na grančici i broja mešovityh pupoljaka po nodusu utvrđena je pozitivna korelacija. Tako, na primer, broj mešovityh pupoljaka po nodusu bio je veći na srednje dugim i dugim grančicama, iako su imale veći broj nodusa, nego na kratkim grančicama. Isto tako, na letorastima, koji su imali manji broj nodusa nego plodonosni prirasti, utvrđen je manji broj mešovityh pupoljaka po nodusu.

#### **8.1.4. Broj i raspored resa na grančicama**

Diferencijacija resa na vršnom nodusu relativno je retka pojava kod oraha. U našem istraživanju ova pojava uočena je samo kod sorte Šejnovo, prvenstveno na najslabije razvijenim letorastima, u godini koja je u hidrološkom i temperaturnom pogledu bila najnepovoljnija za vegetativnu aktivnost mladara. Mert (2010) konstatuje

da se rese kod oraha razvijaju iz lateralnih pupoljaka, a Janković *et al.* (2013) su, ispitujući široku populaciju oraha u regionu Kraljeva, pronašli genotipove koji su bili skloni da u pojedinim godinama formiraju rese na terminalnoj poziciji na letorastima.

Na drugom nodusu grančica bilo je prosečno 0,35 resa, a na trećem 0,57. Ako se od prosečnog broja resa po grančici (4,05) oduzme prosečan broj resa na drugom i trećem nodusu, dobija se da se na ostalim nodusima nalazilo 77,3% od ukupnog broja resa po grančici, što je u skladu sa konstatacijom koju daju Germain *et al.* (1973) i Langrová i Sladký (1971), da se rese kod oraha uglavnom diferenciraju na nodusima koji su bliže osnovi mladara.

Između procesa diferencijacije resa i pojačane vegetativne aktivnosti grančica utvrđena je negativna korelacija, što se može dokumentovati sa nekoliko primera: najveći broj resa po grančici i po nodusu utvrđen je u godinama u kojima su uslovi za vegetativni rast grančica bili najslabiji; na grančicama dužim od 20 cm bilo je manje resa po nodusu nego na grančicama kraćim od 18 cm; broj resa po grančici i po nodusu bio je u statistički visoko značajnoj negativnoj korelaciji sa debljinom grančice, brojem nodusa na grančici i brojem vegetativnih i mešovitih pupoljaka po grančici. Ryugo *et al.* (1985) utvrdili su da je kod stabala sorte Serr koja su bila previše gusto posadena ispoljeno smanjenje intenziteta transpiracije i slabije snabdevanje listova i pupoljaka azotom, pri čemu je sadržaj ugljenih hidrata u njima ostao relativno visok usled smanjenja prinosa, izazvanog obilnim prevremenim otpadanjem ženskih cvetova. Kao posledica promene odnosa ugljenih hidrata i azota, usledilo je smanjenje vegetativne snage rasta mladara, što je imalo za posledicu diferenciranje većeg broja resa na lateralnim nodusima mladara nego kod stabala koja su se nalazila u povoljnim svetlosnim uslovima.

Broj resa po grančici bio je u znatno jačoj negativnoj korelaciji sa brojem ženskih cvetova na prvom nodusu ( $r = -0,614^{**}$ ), nego sa brojem ženskih cvetova na drugom nodusu, na trećem nodusu i po grančici ( $r =$  od  $-0,137^{**}$  do  $-0,229^{**}$ ). Broj resa po nodusu takođe je bio u jačoj negativnoj korelaciji sa brojem ženskih cvetova na prvom nodusu nego sa brojem ženskih cvetova na drugom i trećem nodusu i po grančici. Očigledno je da prisustvo ženskih cvetova na prvom nodusu negativno utiče na diferencijaciju resa, ne samo na tom i susednom nodusu, već se to dejstvo manifestuje na čitavoj grančici.

Najveći broj resa na drugom i trećem nodusu, po grančici i po nodusu grančice imale su izrazito protandrične sorte, Šampion i Šejnovo, dok je kod protoginičnih genotipova (Elit i M1) on bio značajno manji. Očigledno je da je tip dihogamije kod oraha povezan sa dinamikom organogeneze reproduktivnih organa, što je u skladu sa zapažanjima koja su izneli Luza i Polito (1988a) i Polito i Pinney (1997). Indukcija začetaka resa, kao i ženskih cvetova, u zavisnosti od genotipa i ekoloških uslova, dešava se u maju (Ramina 1969; Korać, 1987, Gao *et al.*, 2012). Luza i Polito (1988a) utvrdili su da se proces diferencijacije resa u proleće značajno brže odvija kod protandričnih nego kod protoginičnih genotipova oraha. Prema Ryugo *et al.* (1985), zametanje novih resa kod protandričnih genotipova obilnije je nego kod protoginičnih, jer se kod protandričnih genotipova ono dešava u odsustvu kompeticije sa mešovitim pupoljcima. Jedan od mogućih razloga je i da ženski cvetovi šalju određene signale prema nižim nodusima, ometajući na taj način diferencijaciju resa na njima. Kod različitih vrsta voćaka poznato je da giberelini i auksini iz plodova mogu da inhibiraju obrazovanje cvetova u obližnjim pupoljcima (Buban i Faust, 1982; Hoad, 1984; Pharis i King, 1985; Callejas i Bangerth, 1997; Kondo *et al.*, 1999). Auksini se sintetišu i u drugim organima sa aktivnim rastom, kao što su vrhovi mladara ili mladi listovi (Štefančič *et al.*, 2006). Heslop-Harrison (1963) smatra da visok nivo auksina u pupoljcima stimuliše formiranje ženskih cvetova, dok njihov nizak nivo indukuje formiranje muških cvetova. Rese oraha se diferenciraju u vreme kada je koncentracija giberelina u pupoljcima visoka, a koncentracije auksina i abscisne kiseline niske (Langrová i Sladký, 1971), dok diferencijacija ženskih cvetova u terminalnim pupoljcima započinje pri niskom nivou giberelina i visokom nivou auksina i abscisinske kiseline. Autori su posle tretiranja mladih listova rastvorom indol-3-sirćetne kiseline (IAA) i malein hidrazina (MH) utvrdili da je došlo do povećanja broja vegetativnih pupoljaka na grančicama, dok je egzogena primena rastvora trijodbenzoeve kiseline (TIBA) i giberelinske kiseline (GA<sub>3</sub>) uticala pozitivno na broj resa po grančici. TIBA inhibira bazipetalni transport auksina iz vrha, izazivajući nizak nivo auksina u bočnim pupoljcima oraha (Langrová i Sladký, 1971). Wood (2011) navodi da je folijarna aplikacija rastvora 2-naftil sirćetne kiseline (2-NAA) u koncentraciji 10 ppm kod pekana u sledećoj vegetaciji dovela do osmostrukog smanjenja broja trijada resa po terminalnom mladaru.

Na mladarima sa većim brojem nodusa, odnosno sa većim brojem listova, bio je diferenciran veći broj ženskih cvetova i manji broj resa. Letorasti su imali manji broj nodusa, ali veći broj resa nego plodonosni mladari. Huet (1972) je ispitivao uticaj defolijacije na indukciju cvetova u mešovitim pupoljcima sorte kruške Vilijamovka i utvrdio je da prisustvo dovoljnog broja potpuno razvijenih listova na mladarima predstavlja preduslov za diferencijaciju cvetova u njihovim terminalnim pupoljcima.

Na broj resa na prva tri nodusa, kao i na broj resa po grančici i po nodusu značajan uticaj ispoljile su različite interakcije između godine, genotipa, dužine i tipa grančice. Priroda navedenih interakcija proizilazi iz složenosti i osetljivosti procesa diferencijacije reproduktivnih organa kod oraha. Diferencijaciju polova kod biljaka treba posmatrati kao lanac međusobno zavisnih događaja koji su pokrenuti delovanjem jednog ili više unutrašnjih i spoljašnjih faktora (Chailakhyan i Khrianin, 1987).

#### **8.1.5. Broj i raspored vegetativnih pupoljaka na grančicama**

Letorasti sa vegetativnim pupoljkom na terminalnoj poziciji najčešće predstavljaju vegetativni prirast, pošto se rodni pupoljci kod oraha po pravilu nalaze na vrhu letorasta (Germain *et al.* 1973; Mičić i sar., 1987; Polito, 1998). U skladu sa tim, i u ovom radu vrlo retko je bio slučaj da se na vrhu rodne grančice nalazi vegetativni pupoljak, a da je jedan ili više mešovitih pupoljaka raspoređeno na nižim nodusima.

Prosečan broj vegetativnih pupoljaka bio je manji na terminalnom položaju nego na subterminalnom. Na plodonosnim prirastima utvrđena je češća pojava vegetativnih pupoljaka na prvom nodusu nego na letorastima. Na broj vegetativnih pupoljaka na terminalnom nodusu genotip nije značajno uticao, dok je broj vegetativnih pupoljaka na subterminalnom nodusu i po grančici bio najveći kod sorti kod kojih je broj resa na subterminalnom nodusu i po grančici bio najmanji. Ovi podaci su u skladu sa ranije utvrđenim prisustvom srednje jake negativne korelacije između broja vegetativnih pupoljaka i broja resa na nodusima i po grančici.

Prosečan broj vegetativnih pupoljaka na letorastima iznosio je 2,54 i bio je manji nego na plodonosnim prirastima. Solar *et al.* (2005) utvrdili su da je na letorastima sorte Elit, u zavisnosti od godine, bilo prisutno od 1,25 do 2,14 vegetativnih pupoljaka. Prema rezultatima koje su izneli Kelc *et al.* (2010), letorasti sorti Zdole-59 u 2004. imali su 1,3 vegetativna pupoljka, a u 2003. nijedan. Autori su zaključili da je godina imala

značajan uticaj na broj vegetativnih pupoljaka po letorastu i da je između vrednosti ovog parametra i srednjih dnevnih temperatura u periodu mart-april postojala statistički značajna negativna korelacija. Solar i Štampar (2003) su u populaciji koju je činilo više stotina sejanaca oraha pronašli značajne razlike u broju vegetativnih pupoljaka u zavisnosti od tipa rađanja i grananja. Najveći broj vegetativnih pupoljaka imali su letorasti sejanaca koji su se odlikovali terminalnim tipom rađanja (4,9), a najmanji genotipovi sa lateralnim tipom rađanja (3,1).

Broj vegetativnih pupoljaka po grančici bio je u srednje jakoj pozitivnoj korelaciji sa brojem nodusa na grančici i debljinom grančice, što se dosta podudara sa rezultatima koje su dobili Solar *et al.* (2004) pri ispitivanju populacije od 100 sejanaca oraha. Autori su utvrdili i prisustvo srednje jake korelacije između broja vegetativnih pupoljaka na letorastima i dužine letorasta. Slični odnosi prikazani su i u našem radu, ali sa nešto nižim koeficijentom korelacije. Takođe, naši rezultati su pokazali da je veći prosečan broj vegetativnih pupoljaka po nodusu bio kod dužih grančica nego kod kraćih. Prema navodima Milatovića i sar. (2014), odnos broja cvetnih i vegetativnih pupoljaka kod različitih sorti kajsije bio je veći kod kratkih i prevremenih grančica (prosečno 2,5) u odnosu na duge rodne grančice (prosečno 1,8).

Između broja vegetativnih pupoljaka po grančici i broja ženskih cvetova na prvom nodusu ispoljena je vrlo jaka pozitivna korelacija, što se može dovesti u vezu sa preovlađujućim terminalnim tipom rađanja ispitivanih sorti.

#### **8.1.6. Zastupljenost vegetativnih i različitih kategorija generativnih prirasta u strukturi jednogodišnjeg drveta**

Na strukturu jednogodišnjeg drveta godina nije imala značajan uticaj što ukazuje na stabilan odnos između rasta i rađanja ispitivanih stabala u periodu u kojem su vršena istraživanja. Apostolova (2008) je u ekološkim uslovima Čačka utvrdila značajan uticaj godine i genotipa na strukturu jednogodišnjih grančica oraha.

Prosečan sadržaj vegetativnih prirasta u strukturi jednogodišnjih grančica u sve tri godine istraživanja bio je dosta nizak (od 0,6% do 1,7%). Za razliku od jabučastih i nekih koštičavih voćaka, kod kojih je za normalan prinos potrebno da zametne plodove do 20% cvetova, kod oraha je za dobar rod potrebno da formira plod 50-100% ženskih cvetova (Westwood, 1993), što u slučaju sorti sa terminalnim tipom rađanja



podrazumeva prisustvo na stablu velikog broja rodni grančica. Apostolova (2008) je u ekološkim uslovima Čačka utvrdila da je udeo vegetativnih prirasta u strukturi jednogodišnjeg drveta oraha u 2002. godini, u zavisnosti od genotipa, iznosio 0,7-5,0%, što se u značajnoj meri podudara sa rezultatima koji su dobijeni u ovom radu. Autorka navodi da je udeo vegetativnih prirasta u 2001. godini iznosio 3,6-32,3%, čime se sugerije zaključak o prisustvu alternativnog rađanja, koje je u većini slučajeva posledica nepovoljnog delovanja faktora spoljašnje sredine i genotipskih specifičnosti. Solar *et al.* (2005) su kod sorte Elit takođe konstatovali prisustvo alternativnog rađanja.

U ovom radu sorta Elit je imala najveći udeo vegetativnih prirasta i najmanji udeo muških grančica. Kod sorte Elit utvrđen je i najveći broj vegetativnih pupoljaka po grančici. Ovi podaci su u skladu sa ranije utvrđenim prisustvom negativne korelacije između broja resa i broja vegetativnih pupoljaka po grančici. U istraživanju koje je sprovedla Apostolova (2008) kod sorte Šejново utvrđen je značajno niži sadržaj vegetativnih prirasta u obe godine istraživanja i manje variranje ovog parametra po godinama nego kod sorte G139, što je u skladu sa rezultatima u ovom radu.

Najveći sadržaj muških grančica ustanovljen je u kategoriji najkraćih prirasta (grančice dužine do 6 cm), dok se sa povećanjem dužine i debljine grančica udeo muških grančica smanjivao. Negativna korelacija između sadržaja muških grančica i njihove vegetativne snage rasta u skladu je sa ranije utvrđenom tendencijom da se sa povećanjem dužine grančica povećava i broj vegetativnih i mešovityh pupoljaka po nodusu i po grančici. Veličković i sar. (1997a) su utvrdili da je sa povećanjem bujnosti podloga i sorti jabuke bila smanjena kvantitativna zastupljenost naborityh rodni grančica, a povećana zastupljenost vitih rodni grančica, koje se odlikuju većim vegetativnim potencijalom od naborityh. Apostolova (2008) utvrdila je da je sadržaj muških grančica kod sorte Šejново bio u obe godine istraživanja veći nego kod sorte G139, što je saglasno sa rezultatima koji su dobijeni u ovom radu.

Sadržaj muških grančica u kategoriji plodonosni prirasta bio je dvostruko veći nego u kategoriji letorasta. Povećanje udela muških grančica u kategoriji plodonosni prirasta usledilo je prvenstveno na račun sadržaja kombinovanih grančica, iz čega se može izvesti zaključak da je prisustvo ženski cvetova na plodonosni mladarityma ispoljilo jači negativan uticaj na diferencijaciju novih ženski cvasti nego na diferencijaciju resa. Na osnovu nekih podataka iz literature (Buban i Faust, 1982;

Hoad, 1984; Ryugo *et al.*, 1985), postoje indicije da bi na intenzitet eventualnog inhibitornog delovanja ženskih cvetova na indukciju muških i ženskih cvasti na plodonosnim mladarima mogli da utiču udaljenost nodusa od ženskih cvetova i vreme kada se indukcija ženskih cvasti dešava.

Najveći udeo ženskih grančica utvrđen je kod sorte G139, koja je imala najmanji broj resa po grančici. Kod sorti Šejново i G251 nije pronađena nijedna ženska grančica, pri čemu su ove dve sorte, posle sorte Šampion, imale najveći broj resa po grančici. Ovi podaci su u skladu sa utvrđenom negativnom korelacijom između broja resa i broja ženskih cvetova po grančici ( $r = -0,227^{**}$ ), a naročito između broja resa po grančici i broja ženskih cvetova na prvom nodusu ( $r = -0,614^{**}$ ). Prema Apostolovoj (2008), kod sorte G139 utvrđen je višestruko veći udeo ženskih grančica u strukturi jednogodišnjih grančica nego kod sorte Šejново, što je u skladu sa rezultatima koji su dobijeni u ovom radu. Sa povećanjem dužine grančica povećavao se udeo ženskih grančica u strukturi jednogodišnjeg drveta. To je saglasno sa utvrđenom pozitivnom korelacijom između broja ženskih cvetova po grančici i debljine i dužine grančice. U kategoriji plodonosnih mladara bilo je više ženskih grančica nego u kategoriji letorasta, što je u skladu sa podatkom da je broj resa po nodusu i po grančici bio značajno veći na letorastima nego na plodonosnim prirastima, kao i sa činjenicom da između broja resa i broja ženskih cvetova po grančici postoji negativna korelacija.

Ukupan prosečan udeo kombinovanih grančica u strukturi jednogodišnjih grančica iznosio je 78,5%, što je saglasno sa rezultatima koje je dobila Apostolova (2008), koja navodi da je u 2001. godini udeo ženskih grančica iznosio 48,3%, a u 2002. godini 78,0%. Prema istom izvoru, u obe godine istraživanja kod sorte Šejново utvrđen je veći udeo ženskih grančica nego kod sorte G139. Ovaj podatak je u skladu sa rezultatima koji su dobijeni u ovom radu. U grupi dužih grančica bilo je više kombinovanih grančica nego u grupi kratkih, što je u skladu sa utvrđenim prisustvom srednje jake pozitivne korelacije između broja mešoviti pupoljaka po grančici i broja nodusa po grančici. Letorasti su imali veći sadržaj kombinovanih grančica nego plodonosni prirasti, što može biti posledica inhibitornog uticaja ženskih cvetova i plodova na indukciju i diferencijaciju novih ženskih cvasti na plodonosnim mladarima (Hoad, 1984; Ryugo *et al.*, 1985).

Ženske grančice i kombinovane grančice nose ženske pupoljke i na njima mogu da se formiraju plodovi, tako da ove grančice predstavljaju rodne grančice oraha. Za proizvodnu praksu važno je da njihov udeo u strukturi jednogodišnjeg drveta bude što veći. Apostolova (2008) navodi da je prosečan udeo rodni grančica kod sedam sorti oraha u 2001. godini iznosio od 44,2% do 69,7%, a u 2002. godini od 75% do 90,8%. Za razliku od njenih rezultata, koji velikim razlikama u sadržaju rodni grančica između godina ukazuju na mogućnost pojave alternativnog rađanja, u ovom radu razlike između godina bile su male. Rezultati koje je Apostolova dobila u 2002. godini u značajnoj se meri podudaraju sa rezultatima koji su dobijeni u ovom radu.

U grupi grančica oraha dužine preko 8 cm bilo je više rodni grančica nego u grupi grančica dužine do 6 cm. Pored toga, utvrđena je pozitivna korelacija između broja rodni grančica i dužine grančice, debljine grančice i broja nodusa na grančici. Duži mladari imaju veći broj listova, što je, prema Jonkersu (1979), povezano sa boljim snabdevanjem ugljenim hidratima, neophodnim za formiranje rodni pupoljaka. Prema Abbottu (1977), po vremenu inicijacije i diferencijacije generativni organa, kao i po izraženoj organogenetskoj aktivnosti u ranih stadijumima razvoja mladara, orah ima dosta sličnosti sa jabukom. Feucht (1976) zaključuje da se na dobro osvetljenim mladarima kruške i jabuke koji se odlikuju srednje jakom do jakom snagom vegetativnog rasta formira po pravilu najveći broj kvalitetni rodni pupoljaka, dok je obrazovanje rodni pupoljaka na stablima slabog vegetativnog rasta i u zasenjenim delovima krošnje slabije. Huet (1972 i 1973) je otkrio veoma jaku korelaciju između ukupne lisne površine na plodonosnim rozetama kruške i broja iniciranih cvetova u njihovim terminalnim pupoljcima.

U kategoriji letorasta udeo rodni grančica iznosio je 91,5% i bio je za oko 10% veći nego kod plodonosni prirasta. U ranijem tekstu ukazano je u više navrata na mogućnost da ženski cvetovi, odnosno mladi plodovi, ispoljavaju negativan efekat na indukciju novih ženski cvasti na plodonosni mladarima.

## 8.2. Morfološke karakteristike ženskih reproduktivnih organa

### 8.2.1. Građa mešovitih pupoljaka

Po spoljašnjim morfološkim karakteristikama mešoviti pupoljci ispitivanih sorti oraha nisu se razlikovali od opisa koji su dali drugi autori (Germain *et al.*, 1973; Korać, 1987; Mičić i sar., 1987). Sadržaj i raspored začetaka organa na osovini mešovitih pupoljaka bio je podudaran sa rezultatima koje su prikazali Mičić i sar. (1987), Mičić (1992) i Janković (2002).

Kod biljaka čije se stablo odlikuje ritmičkim rastom, svi organi budućeg mladara mogu biti prisutni u embrionalnom stadijumu u pupoljcima pre nego što započne rast mladara. U daljem rastu mladara mogu se formirati i novi organi koji nisu bili prethodno diferencirani u pupoljcima (Barthélémy i Caraglio, 2007). Organi plodonosnih prirasta oraha, kao što su listovi, ženski cvetovi i pupoljci, prisutni su u mešovitim pupoljcima oraha u embrionalnom stadijumu. Određeni broj nodusa mladara, koji se kao specifičan tip prevremenih prirasta obrazuju iz bočnih tačaka rasta plodonosnog prirasta, mogu predstavljati novoformirane organe, čije primordije nisu bile diferencirane u mešovitim pupoljcima (Sabatier *et al.*, 2003). Vremenski period u kojem se organi nalaze u embrionalnom stadijumu može biti različit, od nekoliko dana (Hallé i Martin, 1968) do nekoliko godina (Meloche i Diggle, 2001). Od inicijacije začetaka listova, bočnih vegetativnih kupa i ženskih cvetova oraha, koja nastupa u junu ili početkom jula (Polito, 1998; Janković, 2002), do razvoja plodonosnih mladara iz mešovitih pupoljaka, koji se najčešće dešava u aprilu i maju sledeće godine (Germain *et al.*, 1973), protekne oko deset meseci. Sabatier *et al.* (2003) navode da razlike u broju nodusa u zimskim pupoljcima oraha čiji su uzorci uzimani u avgustu, oktobru i martu nisu bile značajne.

Kod mnogih vrsta biljaka apikalni meristem mladara posle određenog perioda rasta prestaje sa funkcijom (Barthélémy i Caraglio, 2007). Uzrok prestanka funkcije apikalnog meristema može biti odumiranje ili otpadanje vrha mladara (Garrison i Wetmore, 1961; Millington, 1963; Mičić i Čmelik, 1983; Puntieri *et al.*, 1998), kao i njegova transformacija u druge organe, kao što su cvetovi, cvasti i dr. (Barthélémy i Caraglio, 2007). Organogeneza u mešovitim pupoljcima oraha dosta je slična organogenezi koja se dešava u mešovitim pupoljcima jabuke (Fulford, 1966a, b; Mičić

i sar., 1987; Mičić, 1992). Kod obe navedene vrste kao produkt razvoja mešovitih pupoljaka nastaju plodonosni prirasti koji na svom vrhu, umesto vegetativnog apikalnog meristema, imaju generativne organe (cvetove ili plodove), dok se bočno, u pazusima listova, formiraju vegetativne kupe (Mičić, 1992; Lučić i sar., 1996). Na plodonosnim prirastima, kao posledica odsustva apikalnog meristema, monopodijalni rast prelazi u simpodijalan iz bočnih vegetativnih kupa (Barnola i Crabbé, 1991; Bell, 1991; Sabatier i Barthélémy, 2001).

Kod svih genotipova koji su ispitivani u ovom radu, od vegetativnih kupa u bazalnom i središnjem delu plodonosnog mladara u toku vegetacije diferencirali su se bočni pupoljci, dok su se, najčešće iz 1-3 vršne vegetativne kupe, u toku tekućeg vegetacionog perioda obrazovali prevremeni prirasti, što je saglasno sa podacima koje su izneli Lučić i sar. (1996) i Caraglio i Barthélémy (1997). Činjenica da su se na plodonosnim mladarima svih ispitivanih genotipova razvijali prevremeni prirasti po pravilu samo na distalnom kraju plodonosnog mladara, govori da je kod ovih genotipova prisutna akrotonija. Solar *et al.* (2011) tumače pojavu akrotonije kao posledicu fiziološkog fenomena apikalne dominacije, u čijem ispoljavanju značajnu ulogu, prema Bangerthu (1994), imaju auksini i citokinini. Klee i Lanahan (1995) navode da povećanje koncentracije auksina u lateralnim pupoljcima negativno utiče na razgranavanje mladara. Auksini se sintetišu uglavnom u organima koji aktivno rastu, kao što su vrhovi mladara i mladi listovi (Štefančič *et al.*, 2006), kao i cvetovi, embrioni i plodovi (Moore *et al.*, 1998). Novija istraživanja su pokazala, međutim, da velika potrošnja ugljenih hidrata od strane vrhova mladara ograničava snabdevanje bočnih vegetativnih kupa ovim materijama, što predstavlja jači inhibitorski efekat na razgranavanje mladara nego efekat koji ispoljavaju auksini (Mason *et al.*, 2014). Solar *et al.* (2011) utvrdili su da pojava akrotonije zavisi od sorte, primetivši da je na letorastima sorte Lara akrotonija bila jače izražena nego na letorastima sorte Franquette.

Primordija pravog lista oraha sastoji se od začetka glavne lisne drške, na kojoj su izdiferencirani začeci pojedinačnih liski. Pallardy (2008) navodi da se začeci liski sastoje od centralnog dela koji predstavlja začetak peteljke i glavnog nerva liske, duž kojeg je sa obe strane diferenciran marginalni meristem lista. Listovi nakon inicijacije kratko vreme rastu vrhom, ali ubrzo potom, rast vrha prestaje i gotovo celokupna dužina

lista ostvaruje se interkalarnim rastom. Lisna ploča se formira od meristema koji se diferencira duž margina osovine primordije lista.

Ukupan prosečan broj lisnih primordija na osovini mešovitog pupoljka iznosio je 18,1, od čega je ljuspastih listića, kao i primordija prelaznih listova bilo 4,0, primordija pravih listova 8,3 i primordija gornjih listova 1,8. Na broj lisnih primordija u mešovitim pupoljcima nisu ispoljili značajan uticaj genotip i godina. Sabatier *et al.* (1995) utvrdili su da se u terminalnim mešovitim pupoljcima oraha nalazi 15-16 lisnih primordija. Do sličnih rezultata došli su i Sabatier *et al.* (2003), ispitujući broj primordija listova u terminalnim i subterminalnim mešovitim pupoljcima monocikličnih i bicikličnih letorasta. Broj lisnih primordija u terminalnim vegetativnim pupoljcima koji su utvrdili Sabatier i Barthélémy (2001) iznosio je, u zavisnosti od godine, 15,5-16,3. Značajan uticaj godine na broj lisnih primordija u pupoljcima bio je neočekivan za autore, koji za ovu pojavu nisu imali objašnjenje. Ako se zna da ukupan broj lisnih primordija u pupoljku koji su naveli Sabatier *et al.* (1995), Sabatier i Barthélémy (2001) i Sabatier *et al.* (2003) nije uključivao broj gornjih listova, kojih obično ima 1-3, rezultati koje su navedeni autori dobili u skladu su sa rezultatima koji su prikazani u ovom radu.

Tromp (2005) navodi da se u mešovitim pupoljcima jabuke nalazi 8-9 ljuspastih listića, 2-3 primordije prelaznih listova, 4-6 primordija pravih listova i 3-4 brakteje. Fulford (1966b) je pretpostavio da prelazak pupoljka jabuke iz vegetativne faze razvitka u generativnu nastupa tek kada vegetativni pupoljak dostigne kritični stadijum razvitka. Abbott (1977) smatra da broj diferenciranih nodusa na osovini mešovitog pupoljka predstavlja kritičan faktor za inicijaciju cvetova jabuke, navodeći da kod sorte Cox's Orange Pippin inicijacija cvetova započinje nakon što se u pupoljcima diferencira oko 20 nodusa. U pupoljcima šljive obično je potrebno da se diferencira oko 18 ljuspastih listića, a u pupoljcima trešnje oko 21 ljuspasti listić, pre nego što započne diferencijacija cvetova (Tromp, 2005). Luckwill (1974) je postavio tezu da vremenski interval između inicijacija dve uzastopne lisne primordije u pupoljku (poznat u literaturi kao "plastohron") može predstavljati uslov da li će pupoljak ostati vegetativnog karaktera ili će se u njemu diferencirati cvetovi. Snažan apikalni meristem, koji intenzivno raste, vrlo kasno počinje da obrazuje terminalni pupoljak, dok previše slab apikalni meristem, sa veoma dugim plastohronom, kasni sa formiranjem kritičnog broja lisnih primordija neophodnog za inicijaciju cvetova.

Sabatier i Barthélémy (2001) navode da je broj ljuspastih listića na mešovitim pupoljcima iznosio 3,5-4,7, što je saglasno sa rezultatima u ovom radu. Autori su zapazili da je broj ljuspastih listića na pupoljcima čiji su uzorci uzimani u leto bio veći nego kod pupoljaka koji su otvarani u vreme kretanja pupoljaka i zaključili da je to posledica otpadanja najnižih ljuspastih listića u toku perioda mirovanja. Do istih zaključaka došlo se i u ovom radu. Sabatier *et al.* (2003) navode da je broj takozvanih "zelenih listova", u koje su autori svrstali zajedno prelazne i prave listove, iznosio, u zavisnosti od položaja mešovityh pupoljaka na letorastu i od tipa letorasta (monociklični ili biciklični), 10,3-12,7, što je saglasno sa rezultatima koji su dobijeni u ovom radu.

### 8.2.2. Građa ženskih cvetova

Lin *et al.* (1977) primetili su da je u slučaju zametanja više ženskih cvetova iz jednog generativnog meristema primordija koja ima terminalni položaj obično najslabije razvijena, što je u skladu sa našim zapažanjima, kao i konstatacijom drugih autora (Manning, 1978; Manos i Stone, 2001; Spichiger *et al.*, 2004) da je ženska cvast oraha klas, koja se odlikuje monopodijalnim tipom grananja.

Ukupan prosečan broj ženskih cvetova po cvasti za sve tri godine istraživanja iznosio je 2,1, što je u skladu sa podacima koje su naveli Manning (1978), Polito (1998) i Janković (2002). Broj cvetova u ženskim cvastima predstavlja genotipsku specifičnost koja je važna komponenta rodnog potencijala neke sorte. Forde i McGranahan (1996) navode da se u mešovitim pupoljcima francuske sorte Franquette diferenciraju samo 1-2 ženska cveta, dok se u mešovitim pupoljcima veoma rodnih sorti, kao što je američka sorta Payne, diferenciraju 2-3 ženska cveta. Domaća sorta Tisa obrazuje ženske cvasti u kojima se može nalaziti i preko 20 ženskih cvetova (Korać, 1987). Kod spontanog sejanca M1 utvrđen je najveći prosečan broj ženskih cvetova po cvasti (2,7) dok su pojedine cvasti sadržale i do šest ženskih cvetova, što je bio jedan od najvažnijih kriterijuma da se ovaj genotip uključi u istraživanje.

Rezultati istraživanja u ovom radu podudaraju se u pogledu spoljašnjih morfoloških karakteristika ženskih cvetova sa rezultatima koje su izneli drugi autori koji su se bavili morfologijom ženskih reproduktivnih organa oraha (Nast, 1935; Manning, 1940; Ramina, 1969; Germain *et al.*, 1973; Germain *et al.*, 1975; Lin *et al.*, 1977; Литвак i Пынтя, 1987; Цуркан i Пынтя, 1987; Polito, 1998; Janković, 2002).

Iako u građi ženskih cvetova nije bilo bitnih genotipskih razlika, kod pojedinih genotipova uočena je učestalija pojava defektnih cvetova. Janković *et al.* (2013) opisali su različite vrste deformiteta ženskih cvetova, kao što su srastanje plodnika i stvaranje blizanačkih plodova, formiranje hermafroditnih cvetova i pojava plodova sa nepotpunim šavom ili sa tri, četiri ili pet šavova. Pored normalnih ženskih cvetova sa dva žiga, Холдоров (1975) pronašao je kod nekih genotipova oraha u Tadžikistanu cvetove sa tri žiga. Na uzorcima ženskih cvetova i mladih plodova sa defektnim involukrumom, koji su pronađeni kod sejanca M1, jasno je vidljivo na koji način u građi involukruma učestvuju brakteja, brakteole i čašični listići. Nast (1935) i Manning (1940) su do istovetnih zaključaka došli upoređivanjem položaja provodnih sudova na velikom broju uzdužnih i poprečnih preseka ženskih cvetova u različitim ravnima.

U građi semenih zametaka nisu uočene bitne genotipske razlike. Литвак i Пынтя (1987) su zaključili da je semeni zametak običnog oraha (po tome što je jedinstven u plodnikovoj šupljini, ortotropan, unitegmičan i krasinucelatan) veoma sličan semenom zametku koji se formira kod drugih vrsta oraha. Do istovetnih zaključaka došli su Manning (1978) i Stone (1993). Prema podacima koje je iznela Davis (1966), oko 8% od ukupnog broja proučenih familija skrivenosemenica ima ortotropan semeni zametak, dok na familije sa anatrofnim semonim zametkom otpada oko 83%. Prema istoj autorki unitegmičan semeni zametak ima oko 30% familija skrivenosemenica.

U plodnikovoj šupljini nekada se nalazi samo jedan semeni zametak, dok kod nekih vrsta u plodniku može da ih bude i na hiljade (Mauseth, 1988). Kod predstavnika familije *Rosaceae* u sinkarpnim plodnicima po jednoj karpeli u većini slučajeva formira se 1-2 semena zametka (Савченко, 1973). Iako je plodnik oraha izgrađen od dve karpele, u plodnikovoj šupljini formira se samo jedan semeni zametak. Kod anemofilnih biljaka broj semenih zametaka u cvetu često je veoma mali ili je sveden na samo jedan (Friedman i Barrett, 2008). Friedman i Barrett (2011) smatraju da uporedni filogenetski podaci navode na zaključak da evolutivno smanjenje broja semenih zametaka u plodniku predstavlja znak adaptacije biljnih vrsta na pojavu anemofilnog oprašivanja. Dowding (1987) pretpostavlja da je razlog ovakve adaptacije smanjena verovatnoća da će pri anemofilnom oprašivanju na svaki žig cveta pasti dovoljan broj polenovih zrna koji može da obezbedi oplođenje u više semenih zametaka u plodniku.



Prema Endressu (2011), ortotropni semeni zameci često su unitegmični i predstavljaju evolutivno kompleksnu pojavu. U nekim slučajevima postoje dokazi da je jedinstveni integument nastao stapanjem unutrašnjeg i spoljašnjeg integumenta, dok kod drugih jedinstveni integument najverovatnije vodi poreklo od unutrašnjeg integumenta bitegmičnog semenog zametka. Литвак і Пынтя (1987) pronašli su genotip kod kojeg se javlja delimično ili potpuno odsustvo integumenta. Johri *et al.* (1992) navode da se na distalnom kraju integumenta oraha može videti 4-7 celih ili razrezanih režnjeva. Iako oblik i dubina režnjeva integumenata nisu detaljnije proučavani u ovom radu, u tom pogledu zapažene su izvesne razlike između genotipova. Corner (1976) navodi da je širina integumenta oraha šest ćelija, što se razlikuje od naših rezultata. Prosečan broj slojeva ćelija u integumentu na našim histološkim preparatima iznosio je 7,9 i nikada nije bio manji od sedam niti veći od deset. Литвак і Пынтя (1987) utvrdili su da su ćelije integumenta fiziološki veoma aktivne do oplodjenja i da po intenzitetu histohemijske reakcije prevazilaze ćelije nucelusa. Od svih ćelija integumenta autori smatraju da su epidermalne ćelije i ćelije koje se nalaze u vršnoj zoni integumenta fiziološki najaktivnije.

Iako su krilasti izraštaji oraha bili predmet izučavanja brojnih studija, Catlin i Polito (1989) konstatovali su da je njihova funkcija i dalje nejasna. Prema Karstenu (1902) i Schanderlu (1964), krilasti izraštaji predstavljaju rudimente spoljašnjeg integumenta, dok su Benson i Welsford (1909) smatrali da krilasti izraštaji vrše ulogu obturatora, usmeravajući polenove cevčice prema halaznom delu semenog zametka. Литвак і Пынтя (1987) otkrili su pojačanu enzimsku aktivnost ćelija krilastih izraštaja, naročito u vreme oplodjenja, i na osnovu toga zaključili da oni igraju ulogu obturatora. Nast (1935) je zaključila da krilasti izraštaji, kao specifični produkti placente, vrše funkciju privremenog skladišnog tkiva, jer njihova razgradnja počinje neposredno posle oplodjenja, kada se intenzivira razvoj endosperma. Pošto polenove cevčice stižu do embrionove kesice bez prodiranja u tkivo krilastih izraštaja, autorka smatra da krilasti izraštaji ne mogu da predstavljaju obturator. Luza i Polito (1991) zaključili su da krilasti izraštaji predstavljaju most kojim polenove cevčice prilikom oplodjenja halazogamijom prelaze od zida plodnika do osnove semenog zametka. Nast (1935) navodi da najveću visinu krilasti izraštaji imaju neposredno posle oplodjenja, kada dostižu visinu konusa nucelusa. Prema Nicoloffu (1904, 1905), krilasti izraštaji u vreme oplodjenja mogu da

visinom prevaziđu vrh integumenta. Na našim histološkim preparatima krilasti izraštaji su dostizali maksimalnu visinu neposredno po završetku cvetanja ženskih cvetova i tada je njihova visina bila u većini slučajeva u nivou vrha nucelusa.

Савченко (1973) navodi da se kod ortotropnih semenih zametaka formira prav i kratak provodni snopić, koji od placentе vodi do halaze. Na našim histološkim preparatima jasno se vidi da provodni snopić koji polazi od placentе doseže do halaze i odatle, ne ulazeći u nucelus, grana se u pravcu integumenta. Prema Boumanu (1984), integumenti sa razvijenim provodnim sudovima prisutni su kod krupnih semenih zametaka i semenih zametaka od kojih nastaje krupno seme. Meeuse (1966) svrstao je *Juglandaceae* među primitivnije familije. Jedan od kriterijuma za to je da je integument kod predstavnika ove familije histološki skoro potpuno odvojen od nucelusa i da je opskrbljen provodnim sudovima. Suprotno tome, Савченко (1973) smatra da je jednostruki, višeslojni integument, kakav se formira kod oraha, karakteristika evolutivno naprednijih vrsta. Slično mišljenje izrazio je i Corner (1976). Савченко (1973) smatra da morfološka istraživanja semenog zametka različitih biljaka nisu dala osnov za zaključak da odsustvo provodnog tkiva u integumentu predstavlja znak evolutivne progresivnosti vrste, niti da je njihovo prisustvo karakteristično samo za evolutivno primitivnije biljke. Johri *et al.* (1992), međutim, smatraju da je prisustvo provodnih sudova u integumentu odlika primitivnijih vrsta.

Nucelus predstavlja makrosporangiju u kojoj se obrazuje makrospora (Reiser i Fischer, 1993; Bhojwani i Bhatnagar, 2011). Nucelus skrivenosemenica i nucelus golosemenica homologni su organi (Endress, 2011). Kod skrivenosemenica nucelus je relativno dobro razvijen i po pravilu višeslojan, dok su se kod mnogih skrivenosemenica u toku evolucije dogodile različite redukcije u njegovoj građi. Krasinucelatni semeni zameci imaju višeslojan nucelus, koji se obično sreće kod evolutivno primitivnijih skrivenosemenica (Rosids), dok se u tenuinucelatnim semenim zamecima razvija jednoslojni nucelus, koji je karakterističan za evolutivno naprednije skrivenosemenice (Asterids) (Ingrouille i Eddie, 2006). Davis (1966) navodi da je od 314 familija skrivenosemenica, za koje postoje podaci, kod pripadnika 179 familija utvrđeno prisustvo krasinucelatnog semenog zametka.

Литвак i Пынтя (1987) zaključili su na osnovu intenzivne histohemijske reakcije ćelija halazne zone na proteine, enzime i askorbinsku kiselinu da halaza ima

haustorijalnu ulogu. Pored toga, autori su utvrdili da je citoplazma ćelija placente i halaze veoma bogata granulama polisaharida. Савченко (1973) navodi da tkivo sastavljeno od izduženih tankozidnih ćelija, koje je kod krasinucelatnih semenih zametaka prisutno u prostoru između osnove nucelusa i embrionove kesice, predstavlja poseban tip parenhima, čija je uloga snabdevanje embrionove kesice hranljivim materijama. Autorka pritom napominje da prisustvo ovakvog tkiva predstavlja dokaz postojanja provodnog snopića u nucelusu predačkih vrsta, kao što je slučaj kod pripadnika više familija, među kojima su *Betulaceae* i *Fagaceae*. Na našim histološkim preparatima ženskih cvetova do završetka cvetanja nisu primećeni znaci koji bi ukazivali da izdužene tankozidne ćelije koje se prostiru od placente do embrionove kesice podležu procesu diferencijacije u elemente floema ili ksilema. Литвак і Пынтя (1987) su, u skladu sa našim zapažanjima, u zoni halaze razlikovali dve vrste ćelija: izodijametralne, sa zadebljalim zidovima (koje izgrađuju hipostazu) i izdužene, tankozidne (koje se prostiru od placente do embrionove kesice). Willemse (1992) navodi da hranljive materije do ćelija nucelusa stižu simplastičnim i apoplastičnim putem sve dok ne nastupi jača lignifikacija i suberizacija zidova ćelija hipostaze. Kada se to desi, hipostaza postaje specifičan oblik lokalne apoplastične barijere, tako da je osnovni protok hranljivih materija od placente prema embrionovoj kesici tada moguć samo simplastičnim putem.

Schanderl (1964) je često nalazio semene zametke oraha bez embrionove kesice i zaključio da seme lako nastaje adventivnom embrionijom. Nasuprot njemu, Sartorius i Stösser (1997) navode da su svi semeni zameci koje su posmatrali sadržali embrionovu kesicu. Na našim histološkim preparatima semenih zametaka nije bilo slučajeva odsustva embrionove kesice među kontinuiranim presecima zone nucelusa u kojoj se embrionova kesica obično nalazi.

Potpuno formirana embrionova kesica oraha proširena je na mikropilarnom kraju, a na halaznom kraju je sužena. Na halaznom kraju embrionove kesice postoji udubljenje u kojem su smeštene antipodne ćelije (Литвак і Пынтя, 1987). Autori su zaključili da je ovakav oblik embrionove kesice karakterističan za sve predstavnike roda *Juglans*. Nast (1935) navodi da su antipodne ćelije oraha sitne i tesno grupisane u zašiljenom delu embrionove kesice. Opis izgleda embrionove kesice kao i položaja i izgleda antipodnih ćelija, koje su dali Nast (1935) i Литвак і Пынтя (1987) , u

potpunosti se podudara sa slikom koja je bila prisutna na našim histološkim preparatima. Za razliku od antipoda, čije su trouglaste konture i ćelijski zidovi bili jasno uočljivi, zidove ćelija jajnog aparata na našim histološkim preparatima nije bilo moguće uvek identifikovati. Prema Bhojwaniju i Bhatnagaru (2011), ćelijski zid oko sinergida vidljiv je na trećini ćelije koja je okrenuta mikropili, a na delu ćelije prema halaznom kraju zid postaje sve tanji, da bi postepeno nestao. Литвак и Пынтя (1987), međutim, tvrde da su, zahvaljujući histohemijskim reakcijama, uspeali da identifikuju ćelijski zid kod sinergida. Nast (1935) opisuje jajnu ćeliju oraha kao ćeliju koja je izgledom veoma slična sinergidama, ali je u odnosu na njih smeštena nešto više prema centru embrionove kesice. Za razliku od Karstena (1902) i Nicoloffa (1904, 1905), koji su приметили разлике u veličini jajne ćelije i sinergida, Nast (1935) konstatuje da na materijalu koji je ona izučavala takvih razlika nije bilo. Prema opisu koji su dali Литвак и Пынтя (1987), jedra jajnog aparata nalaze se na mikropilarnom kraju embrionove kesice, pri čemu je položaj jedra jajne ćelije nešto niži od jedara sinergida. U formiranoj embrionovoj kesici jedra sinergida, kao i jedarca u jedrima sinergida, sitnija su nego kod jajne ćelije. Na našim histološkim preparatima bilo je moguće, u skladu sa opisom koji su dali Литвак и Пынтя (1987), razlikovati jedro jajne ćelije od jedara sinergida na osnovu veličine i položaja jedara i veličine jedarca u njima.

Polarna jedra nadmašuju po veličini ostala jedra u embrionovoj kesici i imaju krupnija jedarca. U normalno formiranoj embrionovoj kesici polarna jedra se nalaze jedno pored drugog, neposredno ispod jedara jajnog aparata (Nast, 1935; Литвак и Пынтя, 1987). U slučaju kada se formiranje embrionove kesice vrši po polarnom tipu, polarna jedra zauzimaju bočni položaj u odnosu na jedra jajnog aparata (Литвак и Пынтя, 1987). Na našim histološkim preparatima u većini slučajeva polarna jedra su u vreme punog cvetanja ženskih cvetova bila zbližena neposredno ispod jedara jajnog aparata, dok su u malom broju slučajeva polarna jedra bila razdvojena ili udaljena od jedara sinergida i jajne ćelije. Литвак и Пынтя (1987), kao i Sartorius i Stösser (1997) su konstatovali da se fuzija polarnih jedara u makrogametofitu oraha vrši tek nakon što započne oplodjenje i polarna jedra dođu u kontakt sa spermatičnim ćelijama. Slična zapažanja izneo je i Cerović (1997) kod višnje. Janković (2002) navodi da na histološkim preparatima koje je on proučavao nije bilo primera stapanja polarnih jedara do kraja procesa makrogametogeneze, već je bilo moguće konstatovati samo njihovo

zbližavanje. Na nekim od naših histoloških preparata došlo je do stapanja polarnih jedara, ali se ne može sa sigurnošću potvrditi da li je prethodno već bilo izvršeno oplodjenje.

### 8.2.3. Morfometrija ženskih cvetova i semenih zametaka

Ukupna prosečna dužina ženskih cvetova, merena od osnove cveta do najviše tačke žiga, iznosila je 9 mm. Na veličinu ovog parametra vrlo visoko značajan uticaj imali su godina i genotip. Pollegioni *et al.* (2013) su u Italiji, u uslovima koji predstavljaju prelaz između mediteranske i hladne subhumidne klime, utvrdili da je prosečna dužina ženskih cvetova u fenofazi pune receptivnosti žigova kod 11 genotipova običnog oraha iznosila 10,6 mm dok je kod crnog oraha (*Juglans nigra*) dužina cvetova bila za pet milimetara veća. Prema istim autorima, razlike u dužini stubića i žigova između genotipova običnog oraha nisu bile značajne, dok su genotipovi *J. nigra* ispoljili značajne razlike u pogledu dužine žigova.

Ukupna prosečna širina ženskih cvetova bila je 3,6 mm. Razlike između genotipova u pogledu ovog parametra nisu bile statistički značajne. Hickey i King (1981) navode da prečnik plodnika oraha iznosi 3-4 mm, što je u skladu sa rezultatima u ovom radu. Pollegioni *et al.* (2013) su, međutim, utvrdili da je prosečan prečnik plodnika običnog oraha 2,47 mm. Odstupanja između njihovih rezultata i rezultata koji su prikazani u ovom radu mogu biti posledica genotipskih razlika, kao i različitog uticaja faktora spoljašnje sredine. Na značaj ekoloških faktora ukazuje podatak da je u našim istraživanjima godina ispoljila vrlo visoko značajan uticaj na širinu ženskih cvetova. Pollegioni *et al.* (2013) su kod vrste *Juglans nigra* dobili da je prečnik plodnika bio za 28,7% veći nego kod *J. regia*. Razlike u veličini navedenog parametra između različitih genotipova u okviru jedne vrste nisu bile značajne, što je u skladu sa rezultatima koji su prikazani u ovom radu.

Između dužine i širine ženskog cveta utvrđena je srednje jaka pozitivna korelacija ( $r = 0,502^{**}$ ). Žigovi ženskog cveta oraha su na početku fenofaze cvetanja skoro paralelni i uspravni, da bi se u toku fenofaze cvetanja ugao između njih povećavao i u precvetavanju iznosio preko 90° (Polito, 1998). Iako u ovom radu nije detaljno izučavana dinamika promene položaja i oblika žigova u toku cvetanja ženskih cvetova, uočeno je da u tom pogledu postoje genotipske razlike. U istoj fazi cvetanja žigovi

pojedinih genotipova više su zakrivljeni nego kod drugih genotipova, tako da vrh žiga ne predstavlja najvišu tačku cveta već je to gornji deo luka žiga. Razlike u obliku i položaju žigova u toku punog cvetanja koje se pojavljuju između sorti izgleda da utiču na jačinu korelacije između prečnika plodnika i dužine ženskog cveta. Ova korelacija bi verovatno bila jača ukoliko bi se merenje dužine ženskog cveta, umesto do najviše tačke žigova, sprovodilo do gornje ivice involukruma. Friedman i Barrett (2008) izneli su statističke dokaze da anemofilne biljke imaju sitnije cvetove nego biljke kod kojih oprašivanje vrše insekti.

Ukupna prosečna dužina i širina semenih zametaka iznosila je 0,55 mm. Na dužinu semenih zametaka godina i genotip nisu ispoljili značajan uticaj, dok je širina semenih zametaka vrlo visoko značajno zavisila od genotipa. Jia *et al.* (2013) utvrdili su značajne razlike u prečniku semenih zametaka kod vrste *Prunus salicina*. Ispitujući dimenzije semenih zametaka kod 45 biljnih vrsta Greenway i Harder (2007) dobili su da je koeficijent varijacije u okviru jedne vrste iznosio od 15,3% do 66,3%, sa prosečnom vrednošću 35,6%, što je višestruko veća vrednost nego u ovom radu, gde je koeficijent varijacije za dužinu i širinu semenog zametka bio manji od 9%. Endress (2011) navodi da je kod većine biljnih vrsta dužina semenih zametaka u vreme oplodjenja oko 0,5 mm. Malim semenim zamecima smatraju se oni koji imaju dužinu oko 0,15 mm, dok kod pojedinih vrsta oni mogu da dostignu i 2 mm. Nucelusi krasinucelatnih semenih zametaka, kao što je slučaj kod oraha, po pravilu sadrže veći broj slojeva ćelija, ali su tenuinucelatni semeni zameci obično veći nego krasinucelatni (Greenway i Harder, 2007).

Slaba zavisnost ( $r = 0,06$ ) između dužine ženskih cvetova i dimenzija semenog zametka, može biti posledica metodologije merenja dužine ženskih cvetova, kod koje kritičan faktor predstavlja promena položaja žigova u toku cvetanja ženskih cvetova, o čemu je diskutovano u prethodnom tekstu. Slaba zavisnost između prečnika ženskih cvetova i dimenzije semenog zametka verovatno je posledica specifične građe ženskog cveta oraha u čiji sastav, pored tkiva karpela, ulazi i tkivo involukruma, sastavljeno od brakteje, dve brakteole i čašičnih listića. Tkivo involukruma nije u direktnoj histološkoj vezi sa tkivom karpela, od kojih zavisi ishrana i rast semenog zametka. Kod breskve, kod koje se kompletan plodnik obrazuje samo od tkiva jedne karpele, na osnovu rezultata koji su prikazali Kozai *et al.* (2005), postoji vrlo visoka zavisnost između

dužine semenog zametka i dužine plodnika ( $r = 0,926$ ) i visoka zavisnost između širine semenog zametka i dužine plodnika ( $r = 0,785$ ).

#### 8.2.4. Morfogeneza ženskih cvetova

Nast (1935) je opisala razvitak ženskih cvetova oraha kao akropetalan, navodeći da se obrazovanje delova ženskog cveta vrši po sledećem redosledu: involukrum – perijant - plodnik - centralna placenta – septa - nucelus - integument - krilasti izraštaji. Redosled faza razvitka ženskih cvetova koji je prikazan u ovom radu ne razlikuje se od redosleda koje su izneli drugi autori koji su se bavili ovom problematikom (Nast, 1935; Lin *et al.*, 1977; Цуркан і Пынтя, 1987; Литвак і Пынтя, 1987; Janković i sar., 2007; Барна і Мацюк, 2011; Gao *et al.*, 2012). Razlike su utvrđene u vremenu započinjanja i dužine trajanja pojedinih faza diferencijacije ženskih cvetova između naših rezultata i rezultata nekih stranih autora (Lin *et al.*, 1977; Барна і Мацюк, 2011; Gao *et al.*, 2012). Ove razlike su uglavnom posledica klimatskih i genotipskih razlika.

U literaturi postoji malo podataka o indukciji ženskih cvetova oraha. Цуркан і Пынтя (1987) smatraju da inicijacija brakteje označava ulazak apikalnog meristema pupoljka u generativnu fazu razvitka. Gao *et al.* (2012), proučavajući dinamiku promene sadržaja indol-3-sirćetne kiseline u tkivima mešovityh pupoljaka oraha, utvrdili su da je u ranoj fazi indukcije ženskih cvetova apikalni meristem mladara još pokriven zelenim listićima. Greene (1996) navodi da su promene koje se dešavaju u procesu indukcije cvetova biohemijskog karaktera i da se vrše na ćelijskom nivou, bez spoljašnjih vizuelnih znakova. Prema Durneru (2013), prelazak meristema iz vegetativne u generativnu fazu razvitka vrši se pod uticajem hormona koje listovi šalju u meristem kao odgovor na signal (najčešće temperaturni ili svetlosni) koji dobijaju iz spoljašnje sredine. Apikalni meristem oraha je sa gornje strane pokriven sa dva sloja ćelija koji čine tuniku, ispod koje se nalazi grupa ćelija koja čini korpus. Ovakvu građu generativni meristem zadržava sve vreme svog postojanja (Lin *et al.*, 1977). Gao *et al.* (2012) utvrdili su da indukcija ženskih cvetova kod protandrične sorte Liaoning 1 traje od kraja aprila do kraja maja. Na nivou istraživanja koja su obavljena u našem radu nije bilo moguće utvrditi vreme i trajanje stadijuma indukcije ženskih cvetova.

Prema Durneru (2013), inicijacija cvetova predstavlja prve vidljive morfološke promene koje su posledica aktivnosti generativnog meristema. Цуркан і Пынтя (1987)

smatraju da inicijacija brakteje predstavlja najpouzdaniji znak ulaska apikalnog meristema pupoljka oraha u generativnu fazu razvoja. Do sličnih zapažanja došao je i Janković (2002). Lin *et al.* (1977), međutim, navode da je proširivanje apikalnog meristema prva morfološka promena koja nagoveštava početak diferencijacije ženskih cvetova oraha. Gao *et al.* (2012) utvrdili su da prve znakove diferencijacije ženskih cvetova predstavljaju zaravnavanje vrha apikalnog meristema i izdizanje začetka drške ženske cvasti, koje je posledica periklinalnih deoba ćelija apikalnog meristema. Naša istraživanja su pokazala da diferencijacija primarne brakteje, proširivanje i zaravnavanje apikalnog meristema predstavljaju najranije morfološke znakove aktivnosti ženskog generativnog meristema oraha.

Mauseth (1988) opisuje brakteju kao modifikovani list, koji je specijalizovan da štiti cvast koja se razvija u njegovom pazuhu. Singh *et al.* (1981) definišu brakteju kao modifikovani list u čijem pazuhu se formira cvast ili pojedinačni cvet, a brakteolu kao sekundarnu brakteju, odnosno brakteju koja se nalazi na osovini cvasti i u čijem pazuhu se formira pojedinačni cvet. Manning (1940) prilikom opisa građe ženskog cveta oraha umesto termina brakteola koristio je termin sekundarna brakteja. Hickey i King (1981) listić u čijem se pazuhu formira ženska cvast oraha nazivaju braktejom, dok Nast (1935), Lin *et al.* (1977) i Polito i Pinney (1997) braktejom smatraju list u čijem pazuhu se diferencira ženski cvet oraha. Gao *et al.* (2012) listić u pazuhu kojeg se formira drška ženske cvasti oraha nazivaju lisnom primordijom. U našem radu u cilju otklanjanja moguće nedoumice prilikom upotrebe termina brakteja, za listić u čijem pazuhu se diferencira drška cvasti korišćen je termin primarna brakteja, a za listić u čijem pazuhu se diferencira ženski cvet termin sekundarna brakteja. Primarna brakteja oraha pripada kategoriji gornjih listova. Primordija primarne brakteje razlikuje se od primordija pravih listova po tome što na sebi nema režnjeve koji predstavljaju začetke liski i u njenom pazuhu se umesto vegetativne kupe diferencira osovina cvasti.

Gao *et al.* (2012) utvrdili su da je diferencijacija drške ženske cvasti sorte oraha Liaoning 1 u kineskoj provinciji Hebei započela 5. juna, što je u odnosu na naše rezultate ranije za oko 1-2 nedelje.

Prema našim rezultatima, inicijacija ženskih cvetova kod sorti sa ranijim listanjem dešava se prosečno u trećoj dekadi juna, a kod sorti sa kasnijim listanjem u toku prve i druge dekade jula, što je vremenski približno sa podacima koje su izneli Janković i sar.



(2007), a oko 1-2 nedelje kasnije u odnosu na vreme koje su u uslovima Kalifornije naveli Lin *et al.* (1977). U Moldaviji (Кишинјев) inicijacija ženskih cvetova dešava se u drugoj polovini jula (Цуркан і Пынтя, 1987), a u uslovima Ukrajine tek u trećoj dekadi septembra i prvoj dekadi oktobra (Барна і Мацюк, 2011). Polito i Li (1985) su kod devet sorti oraha različitog vremena listanja i tipa dihogamije uočili primordije ženskih cvetova u mešovitim pupoljcima najkasnije 6-8 nedelja posle punog cvetanja, što predstavlja duži vremenski period nego onaj koji je utvrđen u našim istraživanjima. Ova razlika je prvenstveno posledica nižih temperatura u februaru, martu i aprilu, a na osnovu toga i kasnijeg vremena cvetanja oraha u uslovima Kraljeva nego u uslovima Kalifornije, pri čemu su razlike u toplotnim uslovima i dinamici formiranja ženskih cvetova u maju, junu i julu između navedenih geografskih lokacija dosta manje.

Do sredine jula kod svih genotipova u našem ogledu došlo je do inicijacije involukruma. Prema Lin *et al.* (1977), kod sorti Serr, Chico i Vina začetak involukruma pojavio se oko 10-20 dana posle inicijacije ženskih cvetova, što je u skladu sa našim rezultatima. Kod sorti Tehama, Hartley, Pedro i Franquette, međutim, Lin *et al.* (1977) utvrdili su istovremenu inicijaciju involukruma i cvetnih primordija, što smatramo neprihvatljivim, pošto prema našim zapažanjima do inicijacije involukruma dolazi tek nakon što primordije ženskih cvetova dostignu prečnik 0,3 mm i gornja površina im se zaravna, odnosno kada primordije ženskih cvetova dobiju cilindričan oblik.

Цуркан і Пынтя (1987) navode da je u uslovima Moldavije inicijacija primordija čašičnih listića kod svih ispitivanih genotipova bila izvršena u poslednjoj dekadi avgusta. Među ispitivanim genotipovima tri su bila protandrična, šest protoginičnih i jedan homogaman. Naša istraživanja su pokazala da je kod protandričnih sorti Šejново i Šampion posle inicijacije involukruma diferencijacija ženskih cvetova bila praktično zaustavljena, a kod ostalih genotipova do kraja prve dekade avgusta bili su inicirani začeci čašičnih listića. U periodu od avgusta do kraja vegetacije diferencijacija ženskih cvetova bila je veoma usporena, tako da na njima nisu inicirani novi delovi cveta. Lin *et al.* (1977) navode da je kod sorti Chico i Vina u toku leta bila izvršena inicijacija primordija čašičnih listića, dok se kod sorti Serr, Tehama, Hartley, Pedro i Franquette to dogodilo tek na proleće. Autori su zaključili da se diferencijacija ženskih cvetova kod sorti ranog listanja dešava ranije nego kod sorti koje kasno listaju. Gao *et al.* (2012) su utvrdili da se pojava primordija čašičnih listi kod sorte Liaoning 1 dešava tek u proleće.

Polito i Li (1985) pronašli su da, bez obzira na tip dihogamije, 8-10 nedelja posle punog cvetanja ženskih cvetova inicijacija organa ženskog cveta prestaje ili biva veoma usporena. Autori su prepostavili da do usporavanja procesa diferencijacije ženskih cvetova dolazi usled preusmeravanja velike količine hranljivih materija prema plodovima u kojima se u to vreme vrši lignifikacija perikarpa i ubrzani razvitak embriona. Polito i Pinney (1997) dokazali su da dinamika diferencijacije ženskih cvetova zavisi od tipa dihogamije. Bez obzira na vreme listanja ili cvetanja, začeci ženskih cvetova protoginičnih genotipova ulaze u period mirovanja sa iniciranim čašičnim listićima, a kod protandričnih genotipova sa iniciranim involukrumom. Navedene konstatacije u potpunosti su potvrđene u našim istraživanjima. Kod protandričnih sorti Šejnovo i Šampion po završetku vegetacionog perioda na začecima ženskih cvetova bio je iniciran samo involukrum, dok je kod ostalih genotipova, koji su bili homogamni ili protoginični, utvrđeno prisustvo primordija čašičnih listića.

Ženski cvetovi oraha ulaze u period zimskog mirovanja u nižem stepenu diferencijacije nego cvetni začeci većine jabučastih, koštičavih i jagodastih vrsta voćaka, kod kojih se do kraja vegetacije obrazuju svi delova budućih cvetova, uključujući prašnike i tučkove (Westwood, 1993; Mišić, 2002; Nikolić i Milivojević, 2010; Milatović 2013; Milatović i sar., 2015). U formiranim mešovitim pupoljcima kestena, međutim, u periodu mirovanja prisutna su samo inicijalna tkiva od kojih će se u toku sledećeg proleća diferencirati generativni organi (Bergamini i Ramina, 1971; Mičić i sar., 1989).

Polito i Li (1985) utvrdili su da se u proleće, jednu nedelju pre cvetanja, nastavlja morfogeneza ženskog cveta, pri čemu ona teče intenzivnije kod protandričnih sorti. Sorte Šejnovo i Šampion, pored toga što su protandrične, odlikuju se i ranijim kretanjem vegetacije, tako da naša istraživanja nisu uspela da daju jasan odgovor na pitanje da li je nešto raniji početak diferencijacije ženskih cvetova u prolećnom periodu i nešto ranije vreme cvetanja kod ovih sorti u odnosu na protoginične sorte G139, G251 i Elit predstavljalo posledicu razlike u vremenu listanja sorti ili posledicu različitog tipa dihogamije. Kod protoginičnog sejanca M1, koji se među ispitivanim genotipovima karakteriše najranijim listanjem, proces razvitka ženskih cvetova odvijao se ranije i u letnjem i u prolećnom delu ciklusa nego kod sorti Šampion i Šejnovo.

Lin *et al.* (1977) navode da kod sorti oraha kod kojih u toku leta nije izvršena inicijacija primordija čašičnih listića, to se dešava krajem februara ili u martu sledeće godine. Gao *et al.* (2012) su kod sorte oraha Liaoning 1 uočili pojavu primordija čašičnih listića oko 10. marta. U našem ogledu inicijacija primordija čašičnih listića kod sorti Šejnovo i Šampion dešavala se obično u trećoj dekadi marta i prvoj dekadi aprila.

Prema Gao *et al.* (2012), najkasnije dve nedelje posle inicijacije čašičnih listića kod sorte Liaoning 1 obrazuje se tučak. Diferencijacija karpela kod sorti Chico u Kaliforniji počinje u februaru, kod sorti Vina, Serr, Tehama i Pedro u martu, a kod sorti Hartley i Franquette u aprilu (Lin *et al.*, 1977). Prema Politu (1998), primordije karpela pojavljuju se jednu nedelju pre cvetanja. Prema našim istraživanjima, primordije karpela bile su najpre inicirane kod sejanca M1 (pretežno u trećoj dekadi marta), a najkasnije kod sorte Elit (krajem druge i tokom treće dekade aprila). Барна i Мацюк (2011) zapazili su kod nekih genotipova oraha prisustvo tri karpele. Janković *et al.* (2013) naveli su različite slučajeve formiranja perikarpa oraha u čijoj izgradnji je učestvovalo više od dve karpele, kao i primer gde je perikarp bio izgrađen samo od jedne karpele. U toku naših istraživanja nisu uočene ovakve pojave.

Žigovi oraha nisu prijemčivi za polen dok su međusobno priljubljeni. Maksimalna receptivnost žigova nastupa u momentu kada oni počnu da se razmiču. Tada ćelije žigova izlučuju eksudat koji na njihovoj površini stvara lepljivi sloj koji omogućava klijanje polena. Kad se žigovi razmaknu toliko da zatvaraju ugao od 45°, prestaje lučenje lepljivog eksudata na površini žigova, čime je onemogućeno zadržavanje i klijanje polena (Polito, 1998).

U uslovima Ukrajine (Ternopoljska oblast) puno cvetanje oraha nastupilo je u trećoj dekadi aprila i prvoj dekadi maja (Барна i Мацюк, 2011). Lin *et al.* (1977) navode da je u Kaliforniji otvaranje ženskih cvetova sorte oraha Chico počelo u drugoj dekadi aprila, dok su kod sorte Franquette ženski cvetovi bili spremni za oplodjenje tek krajem druge dekade maja. Mitrović i Blagojević (2003) prikazali su prosečne desetogodišnje rezultate proučavanja fenoloških osobina 40 genotipova oraha u uslovima Čačka, među kojima je bilo i pet genotipova koji su bili predmet naših proučavanja. Od ovih pet genotipova puno cvetanje je najpre nastupilo kod sorte Šejnovo (prosečno 2. maja), a najkasnije kod sorte Elit (13. maja), što predstavlja vremenski razmak od 11 dana. Prema našim rezultatima ženski cvetovi sorte Šejnovo

bili su spremni za oplodjenje oko pet dana pre, a sorte Elit dva dana pre termina koji su dobili navedeni autori. U 2010. i 2011. godini krajem aprila i početkom maja došlo je do zahlađenja, zbog kojeg je razvitak cvetova kod sorti poznog cvetanja bio usporen.

### 8.2.5. Makrosporogeneza i makrogametogeneza

Tok procesa formiranja makrospore i procesa formiranja ženskih gameta koji su prikazani u ovom radu ne razlikuje se bitno od opisa koji su dali drugi autori koji su proučavali ove procese kod oraha (Nast, 1935; Цуркан і Пынтя, 1987; Литвак і Пынтя, 1987; Sartorius i Stösser, 1997; Janković i sar., 2007). Литвак і Пынтя (1987) su zaključili da je po osnovnim karakteristikama procesa makrosporogeneze i makrogametogeneze obični orah sličan većini drugih vrsta oraha.

U sve tri godine proučavanja i kod svih genotipova formiranje semenog zametka dešavalo se u proleće, što je u skladu sa rezultatima drugih autora (Nast, 1935; Цуркан і Пынтя, 1987; Литвак і Пынтя, 1987; Janković i sar., 2007). Литвак і Пынтя (1987) navode da se inicijacija semenog zametka u uslovima Moldavije dešava u drugoj polovini aprila, kada veličina začetaka ženskih cvetova iznosi 2-5 mm. Vremenski termin inicijacije primordije semenog zametka koji autori navode podudara se sa našim rezultatima za većinu genotipova, s tim da je veličina začetaka ženskih cvetova u kojima smo mi utvrdili pojavu primordije semenog zametka bila 0,8-1,2 mm.

Inicijacija semenog zametka posledica je periklinalnih deoba ćelija koje leže ispod epidermalnog sloja placentе. Kasnije, zahvaljujući antiklinalnim i periklinalnim deobama ovih ćelija, izdiže se primordija nucelusa (Савченко, 1973; Jongedijk, 1985; Raghavan, 1997). Dokazano je da je grupa gena, označena kao FBP (Floral Binding Protein), odgovorna za formiranje primordije semenog zametka (Angenent *et al.*, 1995). Hickey i King (1981) smatraju da je semeni zametak oraha pričvršćen za centar primarne pregrade plodnikove šupljine, iako kod mladih cvetova izgleda kao da on ima bazalni položaj u plodniku. Литвак і Пынтя (1987) zaključili su da se semeni zametak oraha obrazuje na uzvišenoj placenti, dok Stone (1993) navodi da se semeni zametak kod svih rodova koji pripadaju familiji *Juglandaceae* obrazuje na tkivu primarne pregrade plodnikove šupljine. Na nivou naših histoloških istraživanja nije bilo moguće utvrditi prirodu uzvišenja na placenti na kojem se obrazuje semeni zametak.

Nast (1935) je zapazila da je inicijacija integumenta kod oraha dualnog karaktera i da se mesta njegove inicijacije nalaze na suprotnim stranama nucelusa. Na bazi detaljno sprovedenih histogenetskih studija, Boesewinkel i Bouman (1967) potvrdili su da se inicijacija integumenta oraha vrši pomoću dve zasebne primordije, koje se u toku daljeg rasta stapaju i formiraju oko nucelusa kružni prsten. U toku daljeg razvitka integumenta, formiraju se submarginalne i subapikalne inicijalne ćelije. Boesewinkel i Bouman (1967) zaključili su da integument kod predstavnika roda *Juglans* nastaje od dermalnih i subdermalnih ćelija drugog i trećeg sloja generativnog meristema. Kod velikog broja biljnih vrsta dokazano je da je inicijacija nucelusa dermalnog karaktera (Bouman, 1984). Na našim histološkim presecima, koji su vršeni u medijalnoj ravni ženskog cveta, vidljiva su dva ispupčenja sa različitih strana primordije nucelusa koja predstavljaju inicijalno tkivo integumenta. Iz ovog ugla posmatranja ne može se sa sigurnošću doneti zaključak da li navedena ispupčenja predstavljaju presek kontinuiranog prstena integumenta ili presek dve zasebne primordije koje se kasnije spajaju u prsten. U vrlo ranim fazama razvitka semenog zametka, u delu epidermisa koji se nalazi iznad primordija integumenta pronađene su ćelije koje oblikom i krupnoćom odstupaju od ostalih, ujednačenih, ćelija epidermisa, što ukazuje na mogućnost da u inicijaciji integumenta, pored subepidermalnih ćelija, učestvuju i ćelije površinskog tkiva.

Prema Raghavanu (1997), arhesporijalne ćelije skrivenosemenica najlakše je razlikovati od ostalih ćelija nucelusa po tome što su krupnije i što imaju hipodermalan položaj na mikropilarnom kraju nucelusa. Pored toga, arhesporijalne ćelije imaju veće jedro i gušću citoplazmu nego okolne ćelije nucelusa (Bhojwani i Bhatnagar, 2011). Литвак і Пынтя (1987) navode da se arhesporijalne ćelije oraha ne razlikuju mnogo od arhesporijalnih ćelija drugih cvetnica. Kod tenuinucelatnih i pseudo-krasinucelatnih semenih zametaka arhesporijalne ćelije direktno funkcionišu kao materinske ćelije makrospore, dok se kod krasinucelatnih semenih zametaka arhesporijalne ćelije dele periklinalno, dajući prema spoljašnjoj strani nucelusa primarnu parijetalnu ćeliju, a prema unutrašnjoj strani primarnu sporogenu ćeliju (Bhojwani i Bhatnagar, 2011). Davis (1966) smatra da su pravi krasinucelatni semeni zameci oni kod kojih sporogene ćelije postaju subhipodermalno, usled stvaranja parietalnih ćelija. Na našim histološkim preparatima sve determinisane materinske ćelije makrospore bile su udaljene od

površine nucelusa nekoliko slojeva ćelija, što potvrđuje krasinucelatnu prirodu nucelusa oraha. Prema Nast (1935) materinske ćelije makrospore (makrosporocite) pojavljuju se u vreme inicijacije integumenta, što se podudara sa našim rezultatima.

Поддубная-Арнольди (1982) navodi da arhesporijalno tkivo oraha može da se sastoji od jedne ili više ćelija. Литвак i Пынтя (1987) utvrdili su da se arhesporijalne ćelije kod oraha nekada mogu naći u grupi, ali u većini slučajeva samo jedna arhesporijalna ćelija postaje makrosporocita, dok se ostale vremenom razgrade i resorbuju. Autori smatraju da arhesporijalne ćelije mogu nastati i diferencijacijom običnih ćelija nucelusa. Савченко (1973) smatra da jednoćelijski arhesporijum predstavlja karakteristiku evolutivno naprednijih biljnih vrsta jer je jednoćelijski arhesporijum nastao redukcijom višećelijskog u toku evolucije. Na našim histološkim preparatima arhesporijum je u najvećem broju slučajeva bio jednoćelijski, ali su u nekim slučajevima bile pronađene i grupe ćelija koje su imale sve bitne karakteristike arhesporijalnih ćelija.

Glavna obeležja za determinaciju makrosporocita u našim istraživanjima bila su: položaj ćelije u nucelusu, veličina ćelije, veličina jedra i položaj jedra u ćeliji. Prema Raghavanu (1997), osnovne odlike makrosporocita su nevakuolizirana citoplazma, centralna pozicija jedra u ćeliji i koncentracija različitih organela u blizini jedra. Литвак i Пынтя (1987) navode da makrosporocite po svojim dimenzijama značajno premašuju veličinu arhesporijalnih ćelija, dok Nast (1935) tvrdi da se makrosporocita nalazi u centru nucelusa, udaljena 2-9 slojeva ćelija od njegove površine.

Čim se makrosporocite formiraju, započinje njihova priprema za mejozu. Kod većine makrosporocita čiji se dalji razvitak dešava po monospornom tipu pri započinjanju mejoze dolazi do nakupljanja kaloze u ćelijskim zidovima (Rodkiewicz, 1970). Pred početak mejoze makrosporocite su povezane sa okolnim ćelijama nucelusa plazmodezmama (Bhojwani i Bhatnagar, 2011). Kao produkt mejoze nastaju četiri haploidne makrospore (Raghavan, 1997). Makrosporocite započinju mejozu kada srednje dnevne temperature pređu 10°C, što se u uslovima Ukrajine obično dešava krajem marta i početkom aprila (Барна i Мацюк, 2011). Nast (1935), navodi da se materinske ćelije makrospore pojavljuju u vreme inicijacije integumenta, a Sartorius i Stösser (1997) su identifikovali u ženskim cvetovima oraha prve dijade oko šest dana pre punog cvetanja. Prema našim istraživanjima, mejoza u ženskim cvetovima započinje

oko 6-8 dana pre otvaranja cvetova, što se, u zavisnosti od genotipa i godine, dešavalo u toku aprila i u prvoj dekadi maja.

Kao produkt prve mejotičke (heterotipične) deobe, koja se uvek vrši u ravni koja je normalna na osu nucelusa, nastaju dve haploidne ćelije (dijade) (Raghavan, 1997; Bhojwani i Bhatnagar, 2011). Halazna dijada je po pravilu veća od mikropilarne (Willemse i Van Went, 1984; Bhojwani i Bhatnagar, 2011). Halazna dijada se skoro uvek deli prva i to u ravni koja je normalna na osu nucelusa, dajući manju ćeliju prema mikropili i veću ćeliju prema halazi. Na taj način nastaju trijade koje su linearno raspoređene (Bhojwani i Bhatnagar, 2011). U slučaju da se mikropilarna dijada podeli u ravni koja je paralelna sa osom nucelusa, mikrospore će imati „T“ raspored (Jongedijk, 1985; Bhojwani i Bhatnagar, 2011). Prema Sartoriusu i Stösseru (1995), u tipičnom slučaju tetrade se mogu uočiti četiri dana pre punog cvetanja i postavljene su linearno. Литвак і Пынтя (1987) utvrdili su da je raspored makrospora u tetradama oraha po pravilu linearan, ali je kod sejansa Иващенко 4/5 bila uočena i pojava makrospora u „T“ rasporedu. Autori su doveli u vezu čestu pojavu „T“ rasporeda makrospora sa velikom frekvencijom propadanja semenih zametaka kod navedenog sejansa. Na svim našim histološkim preparatima makrospore su u tetradama bile linearno raspoređene. Prema Jongedijku (1985), „T“ raspored makrospora u tetradama lakše se uočava dok su makrospore mlađe. Kasnije, usled degeneracije nefunkcionalnih makrospora i pritiska okolnog tkiva makrospore poprimaju linearan raspored.

Makrospora koja je najbliža halazi nastavlja sa razvojem, dok ostale tri makrospore podležu degeneraciji (Nast, 1935; Sartorius i Stösser, 1997). Tri nefunkcionalne makrospore često bivaju zgnječene pod pritiskom koji nastaje usled rasta funkcionalne makrospore (Reiser i Fischer, 1993). Литвак і Пынтя (1987) navode da funkcionalna makrospora, pored toga što je krupnija od ostalih, na mikropilarnom kraju ima optički gušću citoplazmu, a njeno veoma krupno jedro uvek sadrži jedno jedarce. Prema istim autorima, dve srednje makrospore imaju sočivast oblik i brzo se degenerišu, dok je makrospora najbliža mikropili krupnija od njih i ima krupno jedro. Nast (1935), navodi da u nekim slučajevima, naročito ako dođe do propadanja primarne makrospore, od makrospore koja je najbliža mikropili može da se formira sekundarna embrionova kesica. Opis makrospora koji su dali Литвак і Пынтя (1987) odgovara slici koja je bila viđena na našim histološkim preparatima, mada u nekim slučajevima među

nefunkcionalnim makrosporama nije bilo značajnih razlika i one su po izgledu bile dosta slične običnim ćelijama nucelusa u njihovoj okolini. Ingrouille i Eddie (2006) navode tip formiranja monosporne embrionove kesice kao primer modela evolutivne redukcije organa, gde se od četiri makrospore samo jedna preobražava u funkcionalnu makrosporu, od koje će nastati embrionova kesica, dok se ostale tri makrospore dezintegrišu. Willemse i Van Went (1984) smatraju da je izdvajanje jedne funkcionalne makrospore i degeneracija ostale tri posledica polarnosti koja je prisutna još u makrosporocitama i koja se ispoljava kroz asimetričan položaj jedra i neravnomeran raspored različitih organela, plazmodezmi i kaloznog omotača u ćeliji. Polarnost je uslovljena genetičkim faktorima, koji mogu biti modifikovani uticajem spoljašnjih faktora, kao što su ishrana i razvitak semenog zametka.

Posle završene mejoze, makrospora koja se nalazi najbliže halazi sadrži vrlo malo kaloze u zidovima ili je uopšte nema. Istovremeno, tri nefunkcionalne makrospore i dalje su obavijene kaloznim omotačem (Bhojwani i Bhatnagar, 2011). Литвак i Пынтя (1987) navode da bojenjem semenog zametka oraha dihlortriazinskim bojama (Procion MX) nije dobijena jasna reakcija na kalozu. U dostupnoj literaturi nema podataka o detaljnijem istraživanju sadržaja kaloze u ćelijskim zidovima makrosporocita i makrospora oraha.

Prema Jankoviću (2002), makrospora oraha nalazi se duboko u nucelusu, pokrivena sa oko 7-10 slojeva ćelija, što je u skladu sa našim rezultatima. Nast (1935) navodi da je u vreme oplodjenja embrionova kesica oraha bila pokrivena najčešće sa 8-10 slojeva ćelija nucelusa, a retko kada je bila postavljena dublje od 12 slojeva ćelija. Na našim histološkim preparatima embrionova kesica je bila pokrivena sa prosečno 9-10,5 slojeva ćelija nucelusa. Iako je širina nucelusa u stadijumu formirane embrionove kesice bila 2,2 puta veća u odnosu na njegovu širinu u stadijumu makrospore, udaljenost potpuno formirane embrionove kesice od bočnih strana nucelusa bila je za samo 1,4 reda ćelija veća nego udaljenost makrospore. To govori da se rast nucelusa u kasnijim fazama njegovog razvitka ostvaruje prvenstveno povećavanjem dimenzija njegovih ćelija, a ne povećanjem njihovog broja.

Makrogametogeneza kod oraha teče po *Polygonum* tipu, gde se kroz tri sukcesivne mitotičke deobe jedra makrospore formira osmojedarna embrionova kesica (Nast, 1935; Литвак i Пынтя, 1987; Sartorius i Stösser, 1997; Janković, 2002; Барна



i Мацюк, 2011). Proučavanjem naših histoloških preseka embrionovih kesica u različitim fazama razvoja nisu pronađena nikakva bitna odstupanja od opšteg modela procesa formiranja embrionove kesice *Polygonum* tipa koji je dobro proučen i detaljno opisan od strane brojnih autora.

Formiranje embrionove kesice počinje izduživanjem funkcionalne makrospore u pravcu osovine nucelusa (Raghavan, 1997). Prema našim rezultatima, prosečna dužina dvojedarne embrionove kesice bila je za oko 27% veća nego dužina makrospore. Istovremeno dok traje izduživanje makrospore, njeno jedro deli se mitozom (Raghavan, 1997). Deobno vreteno kod prve mitotičke deobe orjentisano je u pravcu duže osovine makrospore (Bhojwani i Bhatnagar, 2011). U centru ćelije između dva nastala jedra pojavljuje se krupna vakuola, koja se povećava i potiskuje jedra na suprotne polove makrospore (Nast, 1935; Литвак и Пынтя, 1987). Prema našim rezultatima embrionova kesica se nalazi u dvojedarnom stadijumu kada integument dostigne oko 60-70% visine nucelusa, što je saglasno sa rezultatima koje su dobili Nast (1935) i Литвак и Пынтя (1987). Svako od jedara deli se opet mitozom i na oba pola formiraju se po dva jedra (stadijum četvorjedarne embrionove kesice), a zatim, posle još jedne mitotičke deobe svakog od njih, nastaje osmojedarna embrionova kesica, sa po četiri jedra na svakom polu (Nast, 1935; Литвак и Пынтя, 1987; Bhojwani i Bhatnagar, 2011). Embrionova kesica se zatim značajno izdužuje (Raghavan, 1997). Naša istraživanja su pokazala da osmojedarna embrionova kesica raste intenzivno ne samo u dužinu, već i u širinu. Zrela embrionova kesica bila je duža od osmojedarne embrionove kesice za oko 11%, dok je širina zrele embrionove kesice bila veća od širine dvojedarne embrionove kesice za oko 39%. Sa svakog pola embrionove kesice odvaja se po jedno jedro i premešta se u središnju zonu embrionove kesice. U toku migracije polarnih jedara započinje citokineza embrionove kesice, odnosno formira se njena karakteristična sedmoćelijska struktura (Nast, 1935; Raghavan, 1997; Bhojwani i Bhatnagar, 2011). Diferencijacija ćelija embrionove kesice vrši se sledećim redosledom: antipode, sinergide, jajna ćelija (Литвак и Пынтя, 1987). Na našim histološkim preparatima nije bilo slučajeva međusobnog stapanja polarnih jedara do kraja procesa makrogametogeneze, već je konstatovano samo njihovo međusobno zbližavanje. Do istih rezultata došli su Литвак и Пынтя (1987) i Sartorius i Stösser (1997).

Nast (1935) i Литвак i Пынтя (1987) utvrdili su podudarnost između mikrofenofaza u razvitku semenog zametka i karakterističnih stadijuma u procesima makrogametogeneze. Nast (1935), ističe da dvojedarni stadijum embrionove kesice nastupa kada integument dostigne dve trećine visine nucelusa, četvorojedarni stadijum embrionove kesice podudara se sa mikrofenofazom u kojoj integument okružuje vrh nucelusa, a pri osmojedarnom stadijumu embrionove kesice integument potpuno prekriva nucelus. Do sličnih rezultata došli su Литвак i Пынтя (1987). Iako se rezultati navedenih autora neznatno razlikuju, naši rezultati podudaraju se više sa rezultatima koje je dobila Nast (1935). U literaturi su, međutim, opisani različiti slučajevi odstupanja od opšte prihvaćene koincidencije između mikrofenofaza u razvitku pojedinih organa cveta i stadijuma makrogametogeneze. Kod pojedinih sorti oraha Литвак i Пынтя (1987) utvrdili su da integument ne stiže da pokrije nucelus do momenta oplođenja. Autori su naveli i slučajeve genotipova kod kojih je delimično ili potpuno bio odsutan integument. Kod nekih triploidnih sorti jabuke i sorte kruške Agua de Aranjues embrionova kesica sazreva previše kasno u odnosu na vreme otvaranja cvetova, što se negativno odražava na rodnost ovih sorti (Tromp, 2005). U našem ogledu nije bilo značajnijih odstupanja kod proučavanih genotipova od opšte šeme koja povezuje mikrofenofaze razvitka semenog zametka sa stadijumima procesa mikrosporogeneze i makrogametogeneze. To znači da se kod genotipova gde je ova koincidencija dokazana mogu sa zadovoljavajućom preciznošću pratiti procesi u embrionovoj kesici na osnovu posmatranja semenog zametka.

### **8.3. Morfološke karakteristike muških reproduktivnih organa**

#### **8.3.1. Građa resa**

Rezultati naših istraživanja u pogledu građe resa i muških cvetova u osnovi ne odstupaju od rezultata koje su izneli drugi autori koji su se bavili ovom problematikom (Manning, 1948; Ramina, 1969; Germain *et al.*, 1973; Germain *et al.*, 1975; Lin *et al.*, 1977; Литвак i Пынтя, 1987; Цуркан i Пынтя, 1987; Polito, 1998; Mert, 2010).

Germain *et al.* (1975) navode da se muške cvasti oraha sastoje od 100 do 160 cvetova, a Molina *et al.* (1996) su utvrdili da rese oraha, u zavisnosti od genotipa, sadrže 95-300 muških cvetova. Sütyemez (2007) je kod 32 turske i američke sorte i

selekcije oraha utvrdio značajno variranje u pogledu broja cvetova po resi. Najmanji broj cvetova po resi imao je genotip 77H1 (110 cvetova), dok je u resama sorte Ürgüp utvrđeno 147 cvetova. Ovi podaci su u saglasni sa našim rezultatima, prema kojima je ukupan prosečan broj muških cvetova po resi iznosio oko 120. Harder i Prusinkiewicz (2013) smatraju da se cvasti anemofilnih vrsta biljaka formiraju na fleksibilnim, elastičnim osovinama (drškama) jer one omogućavaju da u uslovima jačeg vazdušnog strujanja dolazi do intenzivnijeg trešenja muških cvasti i efikasnijeg oslobađanja polena. Depozicija polena, međutim, uspešnija je u uslovima gde žigovi miruju. Ovako protivrečni zahtevi za uspešno oprašivanje vetrom imali su za posledicu nastanak geitonogamije i razvoj specifične građe muških i ženskih cvasti: muške cvasti su obično izdužene, elastične, sa dugom drškom, dok su ženske cvasti po pravilu kompaktne, krute, sa sedećim cvetovima.

U 2012. godini rese su sadržale vrlo visoko značajno manji broj muških cvetova nego u 2010. i 2011. godini. Između broja muških cvetova po resi i broja resa po grančici utvrđeno je prisustvo srednje jake negativne korelacije ( $r = -0,591^{**}$ ). Diferencijacija muških cvetova dešava se u vreme kada mladari oraha nisu još dovoljno razvijeni i kada voćka obezbeđuje rast i razvitak mladara i cvetova najvećim delom angažovanjem svojih rezervnih hranljivih materija. Može se pretpostaviti da se u godinama kada se na mladarima zametne veći broj resa, zbog ograničenih resursa hranljivih materija i pojačanih kompeticijskih odnosa između različitih organa voćke, pogoršavaju uslovi ishrane primordija resa, što ima za posledicu zametanje manjeg broja muških cvetova po resi. Uticaj kompeticijskih odnosa u okviru voćke na diferencijaciju cvetova proučavali su Buszard i Schwabe (1995) i utvrdili da obilan prinos kod jabuke izaziva u sledećoj godini pojavu sitnih cvetova sa kratkom cvetnom drškom, slabo funkcionalnim žigom i stubićem i sa niskim potencijalom za zametanje plodova.

Uticaj genotipa na broj cvetova po resi bio je vrlo visoko značajan. Između broja cvetova po resi i vremena listanja utvrđeno je prisustvo jake korelacije. Sorte sa kasnijim listanjem imale su u proseku veći broj cvetova po resi od sorti sa ranijim listanjem. Naša pretpostavka je da se kod sorti koje kasnije počinju vegetaciju diferencijacija resa vrši u uslovima viših temperatura, dužeg dana i većeg intenziteta svetlosti, što pozitivno utiče na intenzitet fotosinteze i omogućava bolje snabdevanje

začetaka resa hranljivim materijama. Sa tog stanovišta, različiti vremenski uslovi u toku proleća 2010, 2011. i 2012. godine predstavljali su glavni razlog za ispoljavanje vrlo visoko značajne interakcije genotip  $\times$  godina na broj cvetova po resi.

### 8.3.2. Građa muških cvetova

Broj prašnika u muškim cvetovima oraha smanjuje se od osnove prema vrhu rese, tako da cvetovi u osnovi rese mogu sadržati 32 prašnika, a cvetovi na vrhu rese svega dva prašnika (Germain *et al.*, 1975). Prema rezultatima koje su izneli Impiumi i Ramina (1967), cvetovi oraha u osnovi resa imali su prosečno 18 prašnika, a cvetovi na vrhu resa 13 prašnika. Kod 32 sorte i selekcije oraha Sütyemez (2007) je najmanji broj prašnika po cvetu utvrdio kod sorte Tokat 1 (16 prašnika), dok je najviše prašnika u cvetu imala sorta Kaplam 86 (22 prašnika). Rezultati navedenih autora u skladu su sa našim rezultatima, prema kojima su cvetovi na sredini rese sadržali prosečno 18,8 prašnika. Nasuprot navedenim rezultatima, Polito (1998) je zaključio da u cvetu oraha može biti i do 40 prašnika, dok prema Kruegeru (2000), kalifornijske sorte oraha imaju prosečno 40 prašnika po cvetu. Na broj prašnika po cvetu u našem ogledu vrlo visoko značajan uticaj imali su godina, genotip i interakcija genotip  $\times$  godina. Iako između ovog parametra i datuma listanja sorti nisu utvrđeni značajni interakcijski efekti, naša pretpostavka je da specifični korelacioni odnosi unutar voćke, kao i stanje faktora spoljašnje sredine u vreme diferencijacije muških cvetova mogu izazvati variranje broja prašnika u muškim cvetovima u različitim godinama i genotipovima. Sama metodologija uzimanja uzoraka, gde se ispitivanje broja prašnika vrši samo na cvetovima koji se nalaze na sredini rese, može takođe biti izvor variranja i pojave interakcije genotip  $\times$  godina. Pošto se dužina resa menja po godinama, cvetovi koji se nalaze na sredini rese nisu svake godine jednako udaljeni od osnove cvasti. Uprkos ovom nedostatku, metod uzorkovanja cvetova na sredini rese dao je bolje preliminarne rezultate, jer je varijansa bila veća kada su cvetovi za brojanje prašnika uzimani sa različitih delova rese.

### 8.3.3. Morfometrija resa i antera

Dužina resa oraha u vreme prašenja polena, prema Germain *et al.* (1975), može biti 5-22 cm, sa prosekom od 10-11 cm, što je saglasno sa našim rezultatima, prema kojima je prosečna dužina resa iznosila 120 mm. Hickey i King (1981) navode da su razvijene rese oraha duge prosečno 70 mm. U našem ogledu rese su bile duže u 2010. i 2011. godini nego u 2012. Razlog variranja dužine resa po godinama mogu biti razlike u delovanju ekoloških faktora u vreme diferencijacije rese. U povoljnijim ekološkim uslovima formira se veći broj ćelija i izduživanje ćelija je intenzivnije, što predstavlja glavne komponente rasta organa biljaka u dužinu (Webster, 2005). Između vremena punog resanja ispitivanih genotipova i dužina njihovih resa utvrđena je jaka pozitivna korelacija ( $r = 0,82^{**}$ ). Sorte ranijeg resanja (Šejново i Šampion) imale su znatno kraće rese od sorti sa kasnijim resanjem (G139, G251 i Elit). U kasnijim terminima cvetanja temperature su obično više, a u uslovima viših temperatura rast organa u dužinu je intenzivniji (Pallardy, 2008). Može se pretpostaviti da spoljašnji faktori u ranim fazama diferencijacije resa takođe ispoljavaju značajan uticaj na njihovu konačnu dužinu. Pretpostavljamo da je fluktuacija temperature u vreme razvoja resa u različitim godinama predstavljala važan faktor za pojavu interakcije genotip  $\times$  godina.

Hickey i King (1981) navode da su rese oraha prosečno široke 8-10 mm, što značajno odstupa od naših rezultata prema kojima je ukupna prosečna širina resa u vreme punog resanja iznosila 14,7 mm. Na širinu resa vrlo visoko značajan uticaj ispoljila je godina, dok uticaj genotipa i interakcije genotip  $\times$  godina nije bio značajan. Variranje širine resa po godinama u najvećoj meri predstavlja posledicu razlika u širini muških cvetova i razlika u dužini njihovih drški, a oba navedena parametra podložna su uticaju spoljašnjih faktora.

Hickey i King (1981) navode da su antere oraha prosečno duge oko 2 mm i široke 0,75 mm. Molina *et al.* (1996) utvrdili su da je dužina antera kod tri spontana sejanca oraha varirala od 1,7 mm do 2,4 mm, pri čemu je uticaj genotipa bio značajan. Mert (2010) je u kolekciji osam turskih i američkih sorti oraha najkraće antere otkrila kod američke sorte Pedro (1,41 mm), dok je najduže antere (2,55 mm) imala turska sorta Kaman I. Prema istom izvoru, širina antera varirala je od 0,85 mm do 1,15 mm. Naši rezultati su slični sa navedenim rezultatima. Naša istraživanja su pokazala da između dužine antera i vremena resanja postoji srednje jaka korelacija: sorte kasnijeg resanja

imale su duže antere. Navedena korelacija može se objasniti povoljnijim statusom ekoloških faktora za rast antera u kasnijim terminima cvetanja. Između širine antera i debljine antera utvrđena je jaka pozitivna korelacija, dok je korelacija širine i debljine antera u odnosu na dužinu antera bila pozitivna, ali slaba. Iz navedenih odnosa moglo bi se pretpostaviti da su ekološki faktori ispoljili jači uticaj na dužinu antera nego na njihovu širinu i debljinu, ali navedenu pretpostavku ne potkrepljuje činjenica da su u 2012. godini sve tri dimenzije antera bile vrlo visoko značajno manje nego u prethodne dve godine. Kod sorte Šejnovo sve tri dimenzije antera bile su najmanje, što znači da su antere ove sorte imale najmanju zapreminu, dok su kod sorte Elit dužina, širina i debljina antera bile najveće. Mert (2010), navodi da je kod sorte Pedro, koja je imala najmanju dužinu i širinu antera, utvrđen najmanji broj polenovih zrna u anterama, dok je kod sorte Kaman I, koja se odlikuje najkrupnijim anterama, broj polenovih zrna po anteri bio dva puta veći nego kod sorte Pedro.

#### 8.3.4. Morfogeneza resa i muških cvetova

Rezultati naših istraživanja procesa ontogeneze resa i muških cvetova oraha saglasni su sa rezultatima koje su u svojim radovima prikazali drugi autori (Germain *et al.*, 1975; Цуркан и Пынтя, 1987; Luza i Polito, 1988a; Radicati di Brozolo *et al.*, 1990; Барна і Мацюк, 2011; Gao *et al.*, 2014). Između rezultata prikazanih u našem radu i rezultata nekih od navedenih autora postoje izvesne razlike u vremenu početka i završetka pojedinih faza razvitka.

Zametanje muških cvasti u uslovima Moldavije dešava se krajem aprila i početkom maja (Цуркан и Пынтя, 1987). Naša istraživanja su pokazala da diferencijacija resa protandričnih genotipova koji se odlikuju ranim listanjem može u nekim godinama da počne i krajem prve dekade aprila. Očigledno je da je početak ontogeneze muških reproduktivnih organa oraha dosta uslovljen genotipom i klimatskim uslovima.

Neposredno po inicijaciji resa, njihovi začeci veoma podsećaju na začetke vegetativnih pupoljaka. Pojava primordija brakteja na začetku osovine rese predstavlja prvi jasan vizuelni znak koji ukazuje da se radi o budućoj muškoj cvasti, a ne o vegetativnom pupoljku (Барна і Мацюк 2011). Prema ovim autorima, u početnim stadijumima njihovog razvitka, ženski i muški pupoljci mogu se smatrati polno istovetnim. Germain *et al.* (1975) navode da indukcija muških cvetova počinje rano,

neposredno po otvaranju pupoljaka i da se determinacija pola cvetova oraha vrši pod kontrolom auksina ili inhibitornih materija prisutnih u pupoljcima koji se formiraju, a nivo ovih materija i njihov relativni uticaj variraju u toku vegetacije. Gao *et al.* (2014) dokazali su da su histogenetske promene u muškim reproduktivnim organima oraha povezane sa auksinima. Autori su u toku procesa ontogeneze muških reproduktivnih organa oraha utvrdili da je najveća koncentracija IAA bila u tkivima u kojima se dešavala intenzivna diferencijacija.

Цуркан и Пынтя (1987) i Барна i Мацюк (2011) utvrdili su da kod protandričnih sorti oraha inicijacija resa počinje 1-3 nedelje ranije nego kod protoginičnih i homogamnih, što je saglasno sa našim rezultatima, uz primedbu da, pored tipa dihogamije, i vreme listanja ima značajan uticaj na početak diferencijacije muških reproduktivnih organa oraha. Tako, na primer, kod protoginičnog sejanca M1, koji se odlikuje ranim listanjem, formiranje resa počinje svega 2-3 dana kasnije u odnosu na protandrične sorte Šejново i Šampion. Prema našim rezultatima, vreme početka listanja je u jačoj korelaciji sa vremenom početka diferencijacije muških reproduktivnih organa nego sa početkom diferencijacije ženskih cvetova.

Цуркан и Пынтя (1987) utvrdili su da muški cvetovi oraha počinju da se formiraju 2-3 nedelje pre nego ženski cvetovi. Do sličnih rezultata došli su i Барна i Мацюк (2011). Prema našim rezultatima, rese se diferenciraju aktivnošću lateralnih vegetativnih kupa, koje se nalaze u pazuhu listova novih mladara. Diferencijacija resa počinje veoma rano, svega nekoliko dana posle otvaranja pupoljaka, što je u skladu sa rezultatima koje su dali Germain *et al.* (1975) i Цуркан и Пынтя (1987). Za razliku od muških cvasti, ženske cvasti se najčešće nalaze na terminalnoj poziciji na mladaru i počinju da se diferenciraju tek posle završetka rasta mladara, kada apikalni meristem mladara prelazi iz vegetativne faze u generativnu fazu razvitka.

U kasnijim fazama diferencijacije muških generativnih organa tip dihogamije izgleda da ispoljava jači uticaj na dinamiku ovog procesa u odnosu na vreme listanja. Luza i Polito (1988a) utvrdili su da su do avgusta u anterama protandričnih sorti oraha bile diferencirane mikrosporangije, dok je kod protoginičnih sorti diferencijacija antera znatno kasnila. U našem ogledu u anterama protandričnih sorti Šejново i Šampion u toku juna već je bilo prisutno arhesporijalno tkivo, a zid antera je bio višeslojan. Kod ostalih, protoginičnih, sorti diferencijacija ashesporijalnog tkiva izvršena je tek u

proleće sledeće godine. Kod protoginičnog sejanca M1, iako listanje i diferencijacija resa počinju u slično vreme kao kod sorti Šejново i Šampion, do kraja vegetacionog perioda diferencijacija zida antera znatno je kasnila u odnosu na protandrične sorte. Radicati di Brozolo *et al.* (1990) su do kraja novembra u zidovima resa sedam protandričnih sorti oraha utvrdili prisustvo endotecijuma, međuslojeva i tapetuma, a u polenovim kesicama su se nalazile loptaste ćelije sporogenog tkiva.

Između dužine resa u junu i dužine resa u vreme pucanja antera utvrđena je srednje jaka negativna korelacija ( $r = -0,70^{**}$ ), dok je korelacija između dužine resa u junu i dužina resa izmerenih u ostalim terminima merenja bila slaba ( $r < 0,25$ ). Tako, na primer, rese sorti Šejново i Šampion, čiji su začeci u junu bili duži od začetaka resa ostalih genotipova, u vreme cvetanja bile su najkraće. Rani početak formiranja resa kod protandričnih genotipova omogućava da njihove rese u junu budu krupnije nego rese genotipova kod kojih se diferencijacija resa vrši kasnije, a istovremeno, usled nižih temperatura u to vreme i specifičnog odnosa unutrašnjih regulatornih faktora, moguće je da negativno utiče na broj i diferencijaciju cvetova u muškim cvastima i na izduživanje osovine rese u vreme cvetanja.

Germain *et al.* (1975) i Luza i Polito (1988a) su utvrdili da je tokom avgusta i ostatka vegetacionog perioda diferencijacija resa dosta usporena. To su potvrdili i naši rezultati: prosečno povećanje dužine resa u periodu od 20. juna do 20. avgusta bilo je pet puta veće nego povećanje resa u periodu od 20. avgusta do 20. novembra. Langrová i Sladký (1971) konstatovali su da u generativnim pupoljcima oraha posle perioda intenzivnog rasta i diferencijacije dolazi do ispoljavanja inhibicije, tako da se rast i razvitak pupoljaka dovršava tek na proleće sledeće godine. Cornforth *et al.* (1965) pretpostavili su da je mirovanje pupoljaka kod nekih drvenastih vrsta izazvano akumulacijom inhibitora čiji je efekat sličan efektu abscisne kiseline.

Цуркан и Пынтя (1987) utvrdili su da kod protandričnih genotipova razvitak muških reproduktivnih organa u proleće počinje znatno pre nego kod protoginičnih genotipova. Luza i Polito (1988a) su naveli da je u anterama protandričnih sorti do februara bilo prisutno potpuno diferencirano sporogeno tkivo, dok je kod protoginičnih sorti diferencijacija muških cvetova bila nastavljena u martu (kod sorti ranijeg listanja) ili tek u aprilu (kod sorte XXX Mayette). U našem ogledu kod protandričnih sorti Šejново i Šampion u drugoj dekadi marta nastupile su jasno vidljive promene u dužini



resa, koje su bile praćene histogenetskim promenama u sporogenim tkivima antera, dok su identični stadijumi razvitka resa kod protoginičnih genotipova bili evidentirani 1-3 nedelje kasnije.

Naša istraživanja su pokazala da je zahvaljujući postojanju korelacije između morfoloških promena na muškim cvetovima i histogenetskih procesa u sporogenim tkivima antera moguće definisati model za olakšano praćenje procesa mikrosporogeneze i mikrogametogeneze oraha posmatranjem fenoloških promena na muškim reproduktivnim organima.

Mitrović i Blagojević (2003) su na osnovu devetogodišnjeg proučavanja fenoloških osobina više desetina sorti i selekcija oraha utvrdili da je sorta G251 u ekološkim uslovima Čačka bila protandrična. Prema našim rezultatima sorta G251 je u sve tri godine istraživanja bila protoginična. Na to su ukazivala ne samo fenološka praćenja ove sorte, već i dinamika procesa ontogeneze njenih muških i ženskih reproduktivnih organa. Polito i Pinney (1997) i Luza i Polito (1988a) definisali su razlike u dinamici diferencijacije muških i ženskih cvetova protandričnih i protoginičnih tipova oraha. Prema ovim autorima, protandrični tipovi oraha se odlikuju ranijim početkom i bržim tempom diferencijacije muških cvetova, dok se kod protoginičnih tipova oraha ranije iniciraju i brže razvijaju ženski cvetovi. Luza i Polito (1988a) pretpostavili su da fiziološku osnovu heterodihogamije predstavlja različita potreba muških i ženskih pupoljaka za niskim pozitivnim temperaturama u fazi fiziološkog mirovanja, kao i različiti zahtevi pupoljaka prema višim temperaturama u periodu aktivnog rasta.

### **8.3.5. Formiranje mikrogametofita**

Radicati di Brozolo *et al.* (1990) navode da su u uslovima Italije (Torino) krajem jula i početkom avgusta kod svih ispitivanih sorti, koje su bile protandrične, u muškim cvetovima bili prisutni začeci antera sa okruglastim sporogenim ćelijama u središtu mladih polenovih kesica. Luza i Polito (1988a) u anterama protoginičnih genotipova oraha (Chico, Amigo i XXX Mayete) do kraja vegetacionog perioda nisu mogli da potvrde da je došlo do diferencijacije mikrosporangija. Istovremeno, kod protandričnih sorti, kao što su Ashley, Hartley i Scharsch Franquette, utvrđeno je da je u sporangijama bilo prisutno sporogeno tkivo. Ramina (1969) je utvrdio da su u julu u polenovim

kesicama italijanske sorte Sorrento bile diferencirane materinske ćelije mikrospora. Naša istraživanja su pokazala da je kod protandričnih sorti ranog listanja (Šejново i Šampion) diferencijacija sporogenog tkiva počela već u junu, dok je prisustvo sporogenog tkiva u polenovim kesicama protoginičnih sorti, čak i ako one rano počinju vegetaciju (kao što je slučaj kod sejanca M1), utvrđeno tek u martu.

Našim istraživanjima nisu utvrđene nepravilnosti u procesu formiranja mikrogametofita. Luza i Polito (1988a) navode da mejoza protiče normalno i sinhrono u mikrosporangijama svih sorti koje su proučavali. Pollegioni *et al.* (2013) kod različitih sejanaca običnog oraha takođe nisu pronašli nikakve nepravilnosti u procesu mikrosporigeneze, niti su uočili morfološki nenormalne tetrade. U resama dužine oko 20 mm razvitak polena bio je normalan. Kvaliashvili *et al.* (2005), međutim, kod gruzijskih genotipova oraha su utvrdili prisustvo sterilnog polena i pretpostavili su da uzroci ove pojave mogu biti degeneracija muških arhesporijalnih ćelija, degeneracija ćelija tapetuma u ranim fazama razvitka polenovih kesica ili poremećaji u mejozi koji dovode do razvitka trijada ili pentada.

Tapetum ima značajnu ulogu u formiranju polena. U toku mejoze on predstavlja transportno tkivo za hranljive materije od zida antere prema prašničkoj kesi. U ovom stadijumu hranljive materije se ne sintetišu u tapetumu. Tapetum je uključen u sintezu kalaze, enzima koji je odgovoran za razgradnju kaloznog zida i oslobađanje mikrospora u tetradama. U toku postmejotičkog perioda tapetum ima važnu ulogu u formiranju zida polena (Bedinger, 1992; Bhojwani i Bhatnagar, 2011). U zavisnosti od ponašanja njegovih ćelija, razlikuju se dva tipa tapetuma: ameboidni i sekretorni. Ćelije sekretornog (parietalnog ili žlezdanog) tapetuma, koji je prisutan kod oraha, zadržavaju svoj početni položaj u toku razvoja mikrospora (Stone, 1993).

Radicati di Brozolo *et al.* (1990) utvrdili su da se mejoza kod sorte Serr u cvetovima u osnovi rese dešavala kada su rese bile duge oko 13 mm, a kod sorte Franquette u resama dužine 12-15 mm. Prema Pollegioni *et al.* (2013), mejoza se u anterama oraha dešava kada su rese duge 10-13 mm. Naši rezultati su saglasni sa navedenim rezultatima. Precizno definisanje vremena mejoze u resama oraha otežano je zbog sukcesivnog razvoja muških cvetova od osnove rese prema njenom vrhu. Na našim histološkim preparatima istovremeno dok su u najnižim cvetovima rese bile

formirane tetrade, u vršnim cvetovima još je bilo prisutno sporogeno tkivo. Slično zapažanje izneli su Radicati di Brozolo *et al.* (1990).

Prema Bedingeru (1992), značaj mejoze je presudan za reproduktivni ciklus biljaka iz dva razloga: 1) u toku redukcione deobe diploidni broj hromozoma u ćelijama sporofita svodi se na haploidni broj hromozoma u gametofitu; 2) u toku mejoze dešava se razmena genetičkog materijala između homologih hromozoma u procesu koji se naziva rekombinacija, što ima za posledicu da novonastale ćelije imaju različitu genetičku strukturu.

Ni do danas nije razjašnjena priroda stimulansa koji izaziva mejozu u sporogenim ćelijama. Postoje indikacije da stimulans nastaje u nekim drugim delovima biljke i da se odatle prenosi u antere (Bhojwani i Bhatnagar, 2011). Clutter i Sussex (1965) pokazali su da se stimulans za mejozu stvara u apikalnim meristemima biljaka. Ovaj stimulans je vrlo specifičan, pošto deluje samo na mikrosporocite, a ne i na ćelije tapetuma kroz koje mora da prođe da bi stigao do sporogenog tkiva (Bhojwani i Bhatnagar, 2011).

Veliki citoplazmatični kanali, prečnika 1-2  $\mu\text{m}$ , koji u toku obrazovanja kaloznog zida zamenjuju plazmodezme, dostižu najveći razvoj u stadijumu zigotena i pahitena. U tom momentu mikrosporocite su međusobno i sa ćelijama tapetuma povezane citoplazmatičnim vezama, tako da celokupna masa mikrosporocita u polennoj kesici čini jedan sincicijum. Bhojwani i Bhatnagar (2011) smatraju da citoplazmatični kanali omogućavaju kretanje citoplazmatičnog sadržaja između susednih ćelija i razmenu citoloških informacija unutar sincicijuma, što predstavlja verovatno jedan od osnovnih faktora koji obezbeđuju sinhronizaciju procesa mejoze u okviru polenove kesice. Na kraju prve mejotičke deobe, kalozni citoplazmatični kanali se prekidaju, što od ovog trenutka čini mikrosporocite u daljem toku procesa mejoze nezavisnim ćelijama. Njihovoj nezavisnosti doprinosi i dodatni kalozni sloj koji se obrazuje oko pojedinačnih mikrospora (Bhojwani i Bhatnagar, 2011).

Luza i Polito (1988a) su utvrdili da se citokineza oraha odvija po simultanom tipu. Simultani tip citokineze odlikuje se time što posle prve mejotičke deobe ne dolazi odmah do formiranja ćelijskog zida, već nastaje dvojedarna ćelija, čija haploidna jedra sinhronizovano započinju drugu mejotičku deobu, koja ustvari predstavlja mitozu. Bhojwani i Bhatnagar (2011) smatraju da zajednička citoplazma predstavlja uslov koji obezbeđuje sinhronizovanost deobe dva jedra. Na mnogim našim histološkim presecima

mejocita bila su uočljiva dva deobna vretena u jednoj ćeliji, koja su se nalazila u stadijumu kasne anafaze II, što potvrđuje konstataciju da se kod oraha citokineza odvija po simultanom tipu. Na svim histološkim preparatima sa dva deobna vretena ugao između njih iznosio je oko 90°.

Luza i Polito (1988a) navode da su mikrospore u tetradama raspoređene u tetraedarnom poretku, dok Johri *et al.* (1992) smatraju da je raspored mikrospora u tetradama oraha najčešće dekusiran. Analizom položaja deobnih vretena u toku anafaze II mejoze i procesa formiranja tetrada, naš zaključak je da je raspored mikrospora u tetradama oraha dekusiran.

Posle mitoze, razvitak polenovog zrna sastoji se prevashodno u nakupljanju rezervnih materija (proteina, ugljenih hidrata i lipida) u citoplazmi vegetativne ćelije. Izgleda da je to glavna uloga vegetativne ćelije, koja sve više dehidrira kako se bliži vreme oslobađanja polena. U to vreme većina polenovih zrna skrivenosemenica je dvoćelijska, a kod malog broja familija, među kojima prvenstveno *Compositae*, *Cruciferae* i *Gramineae*, generativna ćelija se deli mitozom, posle čega nastaju dve generativne ćelije, tako da polenova zrna u tom slučaju u vreme oslobađanja iz antera imaju troćelijski polen (Brewbaker, 1967).

U nameri da izgradi osnovu za jednoznačan pristup autora koji vrše opis procesa formiranja polenovih zrna, Knox (1984) je ponudio sledeći model, koji podrazumeva postojanje devet razvojnih perioda od stadijuma tetrada do stadijuma trinuklearnog polenovog zrna: 1. period tetrada; 2. period oslobađanja mikrospora iz tetrada; 3. prevakuolarni period; 4. rani vakuolarni period; 5. srednji vakuolarni period; 6. pozni vakuolarni period; 7. rani period sazrevanja polenovog zrna; 8. pozni period sazrevanja polenovog zrna. Na osnovu naših istraživanja, navedeni model u potpunosti odgovara za definisanje procesa formiranja mikrogametofita oraha.

Gao *et al.* (2014) zaključili su da se na osnovu morfoloških promena mogu sa dovoljnom pouzdanošću pratiti histološke i fiziološke osobine muških cvetova oraha. Ova konstatacija opravdava proučavanja procesa morfogeneze muških cvetova u celini, kao i njihovih delova.

### 8.3.6. Građa i morfometrija polenovih zrna

Evrenosoğlu i Misirli (2009) i Mert (2010) su utvrdili da su polenova zrna oraha pantokolporatna, što prema Erdtmanu (1952) znači da su na njihovoj površini ravnomerno raspoređene složene aperture, koje se sastoje od spoljašnjeg dela, koji je u obliku kolpe, i unutrašnjeg dela, koji ima izgled pore. Hesse *et al.* (2009) su svrstali polenova zrna oraha u pantoporatna. Prema Erdtmanu (1952), pantoporatna polenova zrna na svojoj površini imaju ravnomerno raspoređene aperture u obliku pora. Hesse *et al.* (2009) navode da pore kod oraha nisu raspoređene ravnomerno na površini polena. Prema Kapp *et al.* (2000), polenova zrna kod roda *Juglans* su heteropolarna: pore se nalaze na ekvatoru i samo na jednoj hemisferi. Ehrendorfer (1989) i Graham (1998) smatraju da su polenova zrna kod predstavnika roda *Juglans* heteropolarna, sa porama koje su raspoređene samo na jednoj od hemisfera. Traverse (1988) navodi da kod roda *Juglans* na polenovim zrnima postoji nekoliko pora van ekvatorijalne zone, po čemu polen pripada periporatnom tipu, kao i 1-2 pore na ekvatoru, koje polenu daju stefanoporatne karakteristike. Mert (2010) ističe da je nepotpuno hidratizano polenovo zrno oraha ugnuto sa polarnog kraja. Na našim snimcima polena načinjenim pomoću SEM-a pore su bile vidljive u ekvatorijalnoj zoni polena i po pravilu na njegovoj ispupčenoj hemisferi, dok na ugnutoj hemisferi polenovog zrna pore nisu bile prisutne, što navodi na zaključak da polenovo zrno oraha pripada poliporatnom, heteropolarnom tipu. Stone (1993) navodi da su pore na polenu kod vrsta iz roda *Juglans* raspoređene na ekvatoru i na distalnoj hemisferi.

Mert (2010) navodi da je površina polena mikroehinatna, prekrivena sitnim bodljama. Na osnovu naših snimaka polena načinjenih primenom SEM-a površina egzine prekrivena je gusto rasutim bodljama, koje su bile kraće od 1  $\mu\text{m}$ . Prema Hesse *et al.* (2009), površina egzine koja je pokrivena izraštajima kraćim od 1  $\mu\text{m}$  pripada mikroehinatnom tipu.

Prema našim rezultatima dužina polenovih zrna, u zavisnosti od genotipa, iznosila je od 40,5  $\mu\text{m}$  do 44,5  $\mu\text{m}$ , dok je širina polena imala vrednosti od 44,1  $\mu\text{m}$  do 48,3  $\mu\text{m}$ . Mert (2010) je proučavala polen osam sorti oraha turskog i američkog porekla i dobila da je dužina polena varirala od 33,35  $\mu\text{m}$  do 37,50  $\mu\text{m}$ , a širina od 39,30  $\mu\text{m}$  do 43,15  $\mu\text{m}$ . Razlika između njenih i naših rezultata, pored mogućih genotipskih specifičnosti, može da bude i posledica različite metodologije merenja dimenzija

polena. Kod polenovih zrna koja nisu potpuno hidratizirana javlja se ugnuće na polarnoj strani (Mert, 2010), koje onemogućava precizno merenje polarnog prečnika polenovog zrna. Iz tog razloga u našem ogledu morfometrija je vršena na potpuno hidratiziranom polenu. Upoređivanjem vrednosti širine delimično dehidratiziranog polena dobijene pomoću SEM-a i vrednosti širine hidratiziranog polena koja je određena pomoću okulara sa mikrometarskom skalom, utvrđeno je da je vrednost širine hidratiziranog polena bila veća za 0,5-3,5%, u zavisnosti od sorte. Naša pretpostavka je da je turgorov pritisak u hidratiziranom polenu jače uticao na povećanje dužine polena nego na povećanje njegove širine, što je imalo za posledicu nešto veći indeks širine polena u našem radu ( $P/E = 0,91-0,95$ ) u odnosu na rezultate koje su dobili Evrenosoğlu i Misirli (2009) ( $P/E = 0,75-0,76$ ) i Mert (2010) ( $P/E = 0,83-0,87$ ). Na osnovu odnosa  $P/E$ , Evrenosoğlu i Misirli (2009) i Mert (2010) utvrdili su da je polen oraha suboblatnog oblika, dok je prema našim rezultatima polen bio oblatnosferoidan. Naši rezultati, međutim saglasni su sa podacima koje je izneo Graham (1998), prema kojima polen oraha može biti oblatnog do sferoidnog oblika. Polen većine jabučastih i koštičavih voćaka je proljednog ili perproljednog oblika (Evrenosoğlu i Misirli, 2009), polen pistacije je sferoidnog do proljednog-sferoidnog oblika (Belhadj *et al.*, 2007), dok je polen pekana sličnog oblika kao kod oraha (suboblatan) (Stone, 1993). Prema Krempu (1965), polen oraha je srednje veličine. Polen oraha je krupniji od polena kestena (*Castanea sativa* Mill.) (Beyhan i Serdar, 2009) i od polena pistacije (Belhadj *et al.*, 2007), a sitniji je od polena badema (Evrenosoğlu i Misirli, 2009). Stone i Broome (1975) utvrdili su da je kod vrsta koje pripadaju porodici *Juglandaceae* u toku evolucije došlo do povećanja dimenzija polena, oblik polena je postao više loptast, povećao se broj pora na polenovom zrnu i povećala se heteropolarnost polena.

Manos i Stone (2001) navode da su pore na polenu oraha okrugle ili elipsaste i da je rastojanje između pora 10-12  $\mu\text{m}$ . Prema našim rezultatima, pore su, u zavisnosti od genotipa, bile suboblatnog oblika, dok je rastojanje između pora iznosilo oko 16  $\mu\text{m}$  i nije zavisilo od genotipa.

Naša istraživanja su pokazala da je na morfometrijske osobine polena, kao što su širina i dužina polenovog zrna, indeks širine polenovog zrna, dužina i širina pora na egzini i rastojanje između mikrobodlji genotip ispoljio značajan uticaj, pri čemu uticaji godine, kao i interakcije genotip  $\times$  godina, nisu bili značajni. Iz navedenog proizilazi

zaključak da se navedene morfometrijske osobine polena oraha mogu koristiti za determinisanje sorti oraha, na šta su ukazali i Evrenosoğlu i Misirli (2009).

## 8.4. Klijavost polena

### 8.4.1. Uticaj sastava hranljive podloge na klijavost polena

Iako su razlike u prosečnoj klijavosti polena sorti Šejново, Elit i Šampion bile statistički značajne, one nisu bile velike (najveća međusobna razlika u klijavosti ovih sorti iznosila je 1,9%). Znatno slabiju klijavost polena od ostalih sorti u obe godine istraživanja imao je polen sorte G251. Naročito niska klijavost polena ove sorte u 2011. godini najverovatnije je posledica višednevnog kišnog perioda koji se zadesio u vreme otvaranja muških cvetova. I kod ostalih sorti ispoljile su se značajne razlike u procentu klijavosti polena po godinama. Ove razlike ukazuju na izraženu zavisnost fizioloških procesa u polenu oraha od ekoloških faktora i veliki intenzitet variranja ekoloških faktora po godinama. Beyhan i Serdar (2008) utvrdili su da kvalitet polena pitomog kestena veoma varira u zavisnosti od godine i među glavne razloge za to autori navode klimatske uslove koji vladaju u vreme formiranja polena i prašenja resa. Beineke *et al.* (1977) su u toku višegodišnjih oglada uočili značajna odstupanja u klijavosti polena između sorti *Juglans nigra*, koja su, kako ističu autori, često bila više posledica specifičnog delovanja ekoloških faktora u pojedinim godinama i nemogućnosti identičnog tretmana polena u toku oglada nego stvarnih razlika između sorti.

Najveća klijavost polena za pojedine sorte nije ostvarena na istoj hranljivoj podlozi, što govori da su u ogledu ispoljeni značajni interakcijski efekti između sorte i sastava hranljive podloge. Prisustvo interakcija između sorte i sastava hranljive podloge takođe su otkrili Cerović i sar. (1992) i Vergano *et al.* (1990) kod običnog oraha i Beineke *et al.* (1977) kod crnog oraha.

Najveća klijavost polena, u zavisnosti od sorte, kretala se od 33,2% do 52,1%, što je u saglasnosti sa rezultatima koje je dobio Sütyemez (2007), koji navodi da je najveća klijavost polena kod 32 ispitivane sorte iznosila 50,1%. Do sličnih rezultata došli su i Wu *et al.* (2008), koji ističu da je klijavost polena sorte Yunxin na podlozi sa optimalnim sastavom komponenata bila 45,24%. Znatno veću klijavost polena oraha u

svojim ogledima dobili su Vergano *et al.* (1990) (71,4%-82%), kao i Cerović i sar. (1992) (73,5-80,9%).

Uzevši u obzir da je u ovom istraživanju najmanja prosečna klijavost polena u obe godine kod svih sorti ostvarena na podlogama sa 1% agara i da ni kod jedne sorte optimalna podloga nije sadržala 1% agara, proizilazi zaključak da ovako visoka koncentracija agara deluje negativno na klijavost polena ispitivanih sorti oraha. Luza i Polito (1985) ispitivali su klijavost polena 21 sorte oraha na hranljivim podlogama sa pet različitih koncentracija agara (0.50%, 0.65%, 0.80%, 0.95% i 1.00%) i dobili najbolju prosečnu klijavost na podlogama sa 0,65% agara, dok je povećanje sadržaja agara u podlogama imalo za posledicu smanjenje klijavosti i rasta polenovih cevčica. Cerović i sar. (1992) su ostvarili veću klijavost polena na podlogama sa 0,75% agara nego na podlogama sa 0,5% ili 1%. Nasuprot ovim rezultatima, Parihar i Bajpai (1992) su najveću klijavost polena dobili na podlogama sa 1% agara, uz napomenu autora da je na takvim podlogama uvek dolazilo do pucanja vrhova polenovih cevčica. Luza i Polito (1985) navode da na podlogama koje su sadržale 1% agara polen ispitivanih sorti oraha nije klijaao.

Analizom varijanse utvrđeno je prisustvo statistički značajnih interakcija: agar × sorta, agar × saharoza, agar × borna kiselina i agar × kalcijum hlorid, kao i interakcije agara trećeg i četvrtog nivoa. Stoddard (1979) je uočio postojanje značajne interakcije između koncentracije agara i saharoze prilikom ispitivanja klijavosti polena boba (*Vicia faba* L.). U ogledima koje su izveli Luza i Polito (1985) uočljiva je interakcija između koncentracije agara i saharoze: pri koncentracijama saharoze 10%, 15% i 30% najveća klijavost polena oraha ostvarena je na podlogama sa 0,5% agara, dok je na podlogama u koje je dodato 20% i 25% saharoze polenu najviše odgovarala koncentracija agara 0,65%, odnosno 0,8%. U novijoj dostupnoj literaturi nema detaljnijih studija koje se bave izučavanjem interakcija agara i genotipa ili agara i drugih komponenata hranljive podloge pri klijanju polena oraha *in vitro*.

U preliminarnom ogledu, sprovedenom 2010. godine, sa sortom Šejnovo najveća prosečna klijavost polena ostvarena je na podlogama sa 20% saharoze. Na podlogama sa 25% saharoze dobijena je mala klijavost polena, pa zato ovaj nivo saharoze nije bio zastupljen u daljim istraživanjima. Nejasan je uzrok niže klijavosti polena ostvarene u ovom ogledu na podlogama sa 15% saharoze u odnosu na podloge koje su sadržale 10%



i 20% saharoze. U ogledima sa četiri sorte, koji su sprovedeni 2011. i 2012. godine, prosečna klijavost polena ostvarena na podlogama sa 15% saharoze bila je značajno veća nego na podlogama koje su sadržale 10% i 20% saharoze.

Iako je najveća prosečna klijavost polena u 2011. i 2012. godini ostvarena na podlogama u koje je dodato 15% saharoze, a najmanja na podlogama sa 20% saharoze, optimalne podloge za klijanje polena sorti Šampion i Šejново sadržale su 20% saharoze, što govori o prisustvu interakcije između sorte i koncentracije saharoze. Slična zapažanja navodi Mert (2009), dobivši najveću klijavost polena kod pet sorti oraha na hranljivim podlogama sa 15% i 20% saharoze, dok je polen sorte Pedro najbolje klija na podlogama koje su sadržale 10% saharoze. Ispitujući klijavost polena devet genotipova pitomog kestena, Beyhan i Serdar (2008) utvrdili su da je polen većine genotipova najbolje klija na podlogama sa 10% saharoze, dok je kod nekih genotipova, u zavisnosti od godine, najveća klijavost polena bila ustanovljena na podlogama sa 15% saharoze, što potvrđuje prisustvo interakcije genotip  $\times$  koncentracija saharoze  $\times$  godina.

Nezavisno od sadržaja ostalih sastojaka u podlozi, Cerović i sar. (1992) dobili su značajno veću klijavost polena svih ispitivanih sorti oraha na podlogama sa 15% i 20% saharoze nego na podlogama sa 10% ili 25% saharoze, što je saglasno sa rezultatima koji su dobijeni u našem radu. Sütyemez (2007) navodi da je polen oraha pokazao veću klijavost na podlogama sa 15% saharoze nego na podlogama sa 5% i 10% saharoze. Nasuprot ovim rezultatima, Vergano *et al.* (1990) zaključili su da različite koncentracije saharoze (20-25%) u hranljivoj podlozi nisu dovele do značajnih promena u klijavosti polena oraha.

Genotipske specifičnosti pojedinih vrsta biljaka u odnosu na optimalan sadržaj šećera u hranljivoj podlozi pri klijanju polena povezane su sa vodnim potencijalom polena i predstavljaju najčešće odraz prilagođenosti određene vrste biljaka uslovima sredine. Biljke čiji polen zahteva veći sadržaj šećera u hranljivoj podlozi po pravilu su bolje adaptirane na aridniju klimu (Mercado *et al.*, 1994).

Dodavanje borne kiseline u hranljive podloge uticalo je pozitivno na klijavost polena svih sorti u obe godine istraživanja u glavnom ogledu, što je u skladu sa rezultatima koje su dobili drugi autori (Pfahler, 1968; Hall i Farmer, 1971; Holdaway-Clarke i Hepler, 2003; Wang *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2008; Acar *et al.*, 2010). U preliminarnom ogledu, međutim, razlika u klijavosti polena sorte Šejново koja je

ostvarena u odsustvu borne kiseline i na podlogama u koje je dodato 200 ppm borne kiseline nije bila značajna. Luza i Polito (1985) navode da je u odsustvu bora u podlozi klijavost polena ispitivanih sorti oraha bila manja od 2% i da su isključile polenove cevčice rano zadebljavale i pucale. Brewbaker i Majumder (1961) navode da polenu većine biljaka najviše odgovara koncentracija borne kiseline u hranljivoj podlozi oko 100 ppm. U preliminarnom ogledu sa sortom Šejnovo, kao i u ogledu sa četiri sorte u ovom radu, najveća prosečna klijavost polena ostvarena je na podlogama koje su sadržale najveću koncentraciju borne kiseline (600 ppm u preliminarnom ogledu i 400 ppm u glavnom). Conner (2011) je primetio da je klijavost polena pekana rasla sa povećanjem koncentracije borne kiseline u hranljivoj podlozi do 0,25%, da bi sa daljim povećanjem koncentracije klijavost počela lagano da se smanjuje. Luza i Polito (1985) i Wu *et al.* (2008) navode da je optimalna hranljiva podloga za klijanje polena oraha u njihovim ogledima sadržala 10 ppm borne kiseline, dok Cerović i sar. (1992) dodavanjem 0,05-0,2 mM borne kiseline u hranljivu podlogu nisu postigli značajan pozitivan efekat na klijavost polena šest ispitivanih sorti.

Analiza varijanse je ukazala na prisustvo interakcije između koncentracije borne kiseline i sorte, kao i između koncentracije borne kiseline i ostalih sastojaka hranljive podloge. Postojanje interakcije između borne kiseline i sorte uočili su Hall i Farmer (1971), koji su posle dodavanja 100 ppm borne kiseline u podlogu kod dva genotipa *Juglans nigra* dobili povećanje klijavosti polena, dok kod polena ostalih genotipova nije došlo do vidljive reakcije. Ispitujući klijavost polena eukaliptusa, Potts i Marsden-Smedley (1989) su utvrdili prisustvo statistički značajne interakcije između koncentracije saharoze i borne kiseline. U ogledima koje je sproveo Pfahler (1968) uticaj bora na klijavost polena kukuruza u značajnoj meri zavisio je od genotipa. López i Rodríguez (2008) navode da je na klijanje polena vrsta iz roda *Agave* signifikantan uticaj imala interakcija između koncentracija u hranljivoj podlozi borne kiseline i saharoze, kao i borne kiseline i kalcijum nitrata. Saharoza u kombinaciji sa bornom kiselinom stimuliše klijanje polena i rast polenove cevčice jer bor pravi kompleks sa šećerom, koji ima veću sposobnost translokacije nego nejonizovani molekuli šećera bez bora (Sidhu i Malik, 1986).

U preliminarnom ogledu polen sorte Šejnovo najbolje je klija na podlogama bez kalcijum hlorida, dok je u glavnom ogledu izvedenim 2011. i 2012. godine kod svih

sorti klijavost polena bila veća u njegovom prisustvu. Niža klijavost polena sorte Šejnovo u preliminarnom ogledu na podlogama koje su sadržale kalcijum hlorid posledica je interakcije koja je bila ispoljena između koncentracije saharoze i kalcijum hlorida. U podlogama sa visokim sadržajem saharoze (20% i 25%) dodavanje kalcijum hlorida delovalo je negativno na klijavost polena. Tako, na primer, na podlogama koje su sadržale 25% saharoze i 40 ppm kalcijum hlorida klijavost polena bila je manja od 4%. López i Rodríguez (2008) su otkrili postojanje značajne interakcije između sadržaja kalcijum nitrata i saharoze u hranljivoj podlozi pri klijanju polena nekoliko predstavnika roda *Agave*. Dodavanje kalcijuma u hranljivu podlogu uticalo je pozitivno na klijavost polena i dužinu polenovih cevčica kod mnogih biljnih vrsta (Kwack, 1965; Galletta, 1983; Luza i Polito, 1985; Acar *et al.*, 2010). Prema Conneru (2011), klijavost polena pekana na podlogama bez kalcijuma iznosila je skoro nula. U ogledima koje su sproveli Wu *et al.* (2008) optimalna koncentracija kalcijum hlorida za klijanje polena sorte oraha Yunxin iznosila je 40 ppm, što je u skladu sa našim rezultatima. Vergano *et al.* (1990) primetili su da su polenove cevčice oraha bile duže kada se u hranljivoj podlozi nalazila veća koncentracija kalcijum hlorida. Za razliku od navedenih rezultata, u ogledima Cerovića i sar. (1992) nije došlo do promene klijavosti polena oraha posle povećanja koncentracije kalcijum hlorida u hranljivoj podlozi od 0,01 mM do 1 mM. Steer (1989) smatra da kalcijum može da deluje inhibitorno ako mu je koncentracija u hranljivoj podlozi veća od  $10^{-2}$  M.

Luza i Polito (1985) utvrdili su najveću klijavost polena na podlogama koje su sadržale 1 mM kalcijum hlorida. Pri koncentraciji 10 mM, polen nekih sorti nije klijao, dok je pri koncentracijama manjim od 0,1 mM, osim smanjene klijavosti, često dolazilo i do pucanja polenovih cevčica. Autori su uočili različitu reakciju sorti na sadržaj kalcijum hlorida u podlozi. Iz njihovih rezultata može se uočiti i prisustvo interakcije između koncentracije kalcijuma i borne kiseline. Pfahler (1968) je izneo da je u njegovim ogledima uticaj sadržaja kalcijuma u hranljivoj podlozi na klijavost polena kukuruza značajno zavisio od genotipa.

Svi sastojci hranljive podloge ispoljili su značajan uticaj na rast polenovih cevčica sorte G251, što je saglasno sa rezultatima koje su dobili Luza i Polito (1985). Najveća dužina polenovih cevčica ostvarena je na podlozi koja je sadržala 0,6% agara, 15% saharoze, 200 ppm borne kiseline i 50 ppm kalcijum hlorida, što se, sa izuzetkom

koncentracije agara, podudara sa sastavom podloge na kojoj je ostvarena i najveća klijavost polena. Treba napomenuti da optimalni sastav podloge za ispitivanje klijavosti polena i optimalni sastav podloge za ispitivanje rasta polenovih cevčica nisu mogli da budu identični pošto prilikom ispitivanja uticaja sastava hranljive podloge na dužinu polenovih cevčica u ogled nije bila uključena koncentracija agara 0,8%. Luza i Polito (1985) navode da su najveću klijavost polena dobili na podlogama identičnog sastava na kojima je utvrđena i najveća dužina polenovih cevčica. Postoje, međutim, radovi koji ukazuju da se sastav hranljivih podloga na kojima je ostvarena najveća klijavost polena u značajnoj meri razlikuje od sastava podloga na kojima je postignut najbolji rast polenovih cevčica. Johri i Vasil (1961) su zaključili da je bor značajniji za rast polenove cevčice nego za klijanje polena. Vergano *et al.* (1990) dobili su najveću klijavost polena sorte Vina na podlogama koje su sadržale 20% saharoze i 1 mM kalcijum hlorida, dok su polenove cevčice navedene sorte najveću dužinu imale na podlogama sa 25% saharoze i 0,1 mM kalcijum hlorida. Najveća klijavost polena eukaliptusa u ogledu koji su sproveli Potts i Marsden-Smedley (1989) ostvarena je na podlozi sa 30% saharoze, dok su najbolji uslovi za rast polenovih cevčica bili na podlogama koje su imale 20% saharoze.

Najveća prosečna dužina polenovih cevčica sorte G251 iznosila je 379  $\mu\text{m}$ , pri čemu je veliki broj polenovih cevčica prelazio dužinu 450  $\mu\text{m}$ . Relativno visoka vrednost koeficijenta varijacije (oko 24%) ukazuje na veliku varijabilnost eksperimentalnih podataka. U ogledu koji su izveli Vergano *et al.* (1990) prosečna dužina polenovih cevčica bila je najveća na podlozi koja je sadržala 0,65% agara, 20% saharoze, 0,16 mM borne kiseline i 1 mM kalcijum hlorida i iznosila je, u zavisnosti od sorte, od 172,8  $\mu\text{m}$  do 269,4  $\mu\text{m}$ . Iako su razlike između sorti u dužini polenovih cevčica bile relativno velike, one nisu bile statistički značajne, što govori da su eksperimentalni rezultati dosta varirali. U pogledu dužina polenovih cevčica i varijabilnosti podataka rezultati navedenih autora saglasni su sa rezultatima koji su prikazani u našem radu. Luza i Polito (1985) navode da je najveća prosečna dužina polenovih cevčica kod 21 ispitivane sorte oraha u njihovim ogledima bila 435  $\mu\text{m}$ , a najmanja 31  $\mu\text{m}$ . Ako se zna da je prosečna veličina polenovog zrna oko 40  $\mu\text{m}$ , može se izvesti zaključak da su autori najmanje vrednosti mogli da dobiju merenjem polenovih cevčica koje su bile kraće od prečnika polenovog zrna.

Polenove cevčice sorte G251 bolje su rasle na podlogama sa 0,6% agara nego na podlogama koje su sadržale 1% agara. Ove razlike su bile znatno jače izražene u ogleđima koje su sproveli Luza i Polito (1985), gde je dužina polenovih cevčica na podlogama sa 1% agara bila jednaka nuli.

Polen sorte G251 najbolje je rastao na podlogama koje su sadržale 15% saharoze, ali se ove vrednosti nisu statistički značajno razlikovale od prosečnih vrednosti dužine polenovih cevčica dobijenih na podlogama sa 10% i 20% saharoze. Luza i Polito (1985) su najveću prosečnu dužinu polenovih cevčica dobili na podlogama sa 20% saharoze. Autori navode da su pri nižim koncentracijama saharoze polenove cevčice bile kraće, dok su na podlogama sa većim koncentracijama saharoze od 20% polenove cevčice završavale rast neposredno po izlasku iz polenovog zrna. Vergano *et al.* (1990) su dobili veću prosečnu dužinu polenovih cevčica na hranljivim podlogama sa 20% saharoze, ali je rast polenovih cevčica značajno zavisio od interakcije saharoze i kalcijum hlorida. Na podlogama koje su sadržale 25% saharoze i 1 mM kalcijum hlorida polenove cevčice su više porasle nego na podlogama u kojima je 20% saharoze bilo u kombinaciji sa 0,1 mM kalcijum hlorida.

Brojni istraživači su dokazali da je za rast polenove cevčice neophodan bor (Vasil, 1960; Pfahler, 1967; Holdaway-Clarke i Hepler, 2003; Wang *et al.*, 2003). Rezultati naših istraživanja takođe ukazuju na to, jer su polenove cevčice u odsustvu borne kiseline bile kraće za 30-35% u odnosu na one koje su klijale na podlogama u koje je bila dodata borna kiselina. Conner (2011) navodi da su u odsustvu bora formiranje i rast polenovih cevčica pekana bili slabi. Luza i Polito (1985) navode da su najveću prosečnu dužinu polenove cevčice imale na podlogama sa 0,16 mM borne kiseline, dok su pri koncentraciji 0,1 mM borne kiseline polenove cevčice bile vrlo kratke ili su masovno pucale. Prema podacima istih autora, pri koncentraciji borne kiseline 0,08 mM polenove cevčice su bile kraće za 25-33% u odnosu na koncentraciju 0,16 mM, što je saglasno sa rezultatima koji su prikazani u našem radu.

U odsustvu kalcijum hlorida polenove cevčice sorte G251 bile su kraće za oko 42% nego kada je u podlogama bio dodat kalcijum hlorid. Luza i Polito (1985) ostvarili su najveću prosečnu dužinu polenovih cevčica na podlogama koje su sadržale 1 mM kalcijum hlorida. Kako autori navode, smanjivanje koncentracije kalcijum hlorida uticalo je negativno na rast polenovih cevčica. Pri koncentraciji kalcijum hlorida

0,1 mM dužina polenove cevčice je dosta zavisila od sorte: kod nekih sorti polen nije klijaao, dok su kod sorte Meylan polenove cevčice bile duge oko 400  $\mu\text{m}$ . Prema Galletti (1983), dodavanje bora i kalcijuma u hranljivu podlogu deluje pozitivno na rast polenovih cevčica kod većine voćaka. Brewbaker i Kwack (1964) su zaključili da uticaj kalcijuma zavisi od prisustva kiseonika i bora u hranljivoj podlozi i njenog osmotskog pritiska.

Na dužinu polenovih cevčica sorte G251 značajan uticaj ispoljile su interakcije između sadržaja pojedinih komponenti hranljive podloge (agar  $\times$  borna kiselina, borna kiselina  $\times$  kalcijum hlorid, agar  $\times$  borna kiselina  $\times$  kalcijum hlorid i agar  $\times$  borna kiselina  $\times$  kalcijum hlorid  $\times$  saharoza). Prisustvo interakcije između saharoze i kalcijum hlorida na rast polenovih cevčica oraha utvrdili su Vergano *et al.* (1990), dok se iz rezultata koje su objavili Luza i Polito (1985) vidi da je efekat koncentracije kalcijum hlorida na rast polenovih cevčica u njihovim ogledima zavisio od sorte.

#### 8.4.2. Uticaj temperature na klijavost polena

Klijavost polena svih ispitivanih sorti oraha značajno je zavisila od temperature, što je u skladu sa rezultatima koje su dobili brojni autori kod različitih vrsta biljaka (Griggs *et al.*, 1975; Luza *et al.*, 1987; Sukhvibul *et al.*, 2000; Pirlak, 2002; Hedhly *et al.*, 2005). Manja klijavost polena svih sorti u 2012. godini u odnosu na 2013. godinu je najverovatnije posledica dugog perioda hladnog i kišovito vremena u proleće 2012. godine. Jak uticaj ekoloških uslova u vreme formiranja polena i prašenja resa na funkcionalnu sposobnost polena uočen je kod crnog oraha (Beineke *et al.*, 1977) i pitomog kestena (Beyhan i Serdar, 2008).

Luza *et al.* (1987) su otkrili da polen nijedne od ispitivanih sorti *Juglans regia* i *Juglans nigra* nije klijaao na temperaturi nižoj od 14°C. Posle njihovih istraživanja nije bilo novih studija o kardinalnim temperaturama za klijanje polena oraha, pa se ovi rezultati često citiraju kao dokaz visokih zahteva polena navedenih vrsta prema toploti prilikom klijanja. Polen pojedinih sorti badema, trešnje i kajsije klija već na temperaturi 5°C (Griggs i Iwakiri, 1975; Egea *et al.*, 1992; Pirlak, 2002), dok polen pojedinih sorti kruške i manga klija na temperaturi 10°C (Mellenthin *et al.*, 1972; Sukhvibul *et al.*, 2000). U ovom ogledu u obe godine istraživanja polen svih pet sorti oraha klijaao

je na temperaturi  $12\pm 1^{\circ}\text{C}$ , što nagoveštava mogućnost da postoje genotipovi oraha čiji polen klija i na nižim temperaturama.

U obe godine istraživanja uticaj genotipa na klijavost polena pri kardinalnim temperaturama bio je statistički značajan. Na prisustvo interakcije između genotipa i temperature ukazuju radovi mnogih autora (Pfahler *et al.*, 1997; Mckee i Richards, 1998; Song *et al.*, 1999; Sukhvibul *et al.*, 2000; Hedhly *et al.*, 2004). Luza *et al.* (1987) navode da je na temperaturi  $14-15^{\circ}\text{C}$  klija samo polen sorti oraha koje su se odlikovale ranijim resanjem, ukazujući na visoku korelaciju između vremena listanja sorti i minimalne temperature klijanja njihovog polena. U ovom radu utvrđena je niska korelacija između klijavosti polena na temperaturi  $12\pm 1^{\circ}\text{C}$  i datuma cvetanja sorti.

Polen sorti Šampion i Šejnovo, kod kojih pucanje antera počinje u proseku u trećoj nedelji aprila, pokazao je najveću klijavost na  $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ , dok je polen sorti G139, G251 i Elit, kod kojih antere počinju da pucaju prosečno u prvoj dekadi maja, najbolje klija na  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$  u obe godine u kojima je vršen ogled. Ispitujući klijavost polena šest sorti oraha na tri temperature ( $16\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $19\pm 1^{\circ}\text{C}$  i  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), Mert (2009) je najveću klijavost polena oraha dobila na temperaturi  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ , a najmanju (1,97-8,92%) na  $16\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Wu *et al.* (2008) navode da je optimalna temperatura za klijanje polena i rast polenove cevčice u njihovim ogledima iznosila  $25^{\circ}\text{C}$ . Luza *et al.* (1987) su najveću klijavost polena kod sorti običnog oraha ostvarili na  $28^{\circ}\text{C}$ , a kod sorti *J. nigra* na  $32^{\circ}\text{C}$ . Autori su utvrdili više optimalne temperature za klijanje polena kod sorti sa kasnijim datumom resanja, što je potvrđeno i u ovom radu (prosečna vrednost Pirsonovog koeficijenta korelacije između optimalne temperature za klijanje polena i vremena pucanja antera iznosila je 0,83).

#### **8.4.3. Uticaj vremena i uslova skladištenja na klijavost polena**

Analiza varijanse podataka dobijenih u ovom ogledu pokazala je da su statistički značajan uticaj na klijavost polena ispoljili svi faktori koji su bili uključeni u ogled, ali su temperatura, vreme čuvanja polena i hidratacija polena pre naklijavanja imali najjači efekat. Do sličnih zaključaka došli su brojni autori koji su se bavili fiziologijom čuvanja polena različitih biljnih vrsta (Stanley i Linskens, 1974; Shivanna i Heslop-Harrison, 1981; Towill, 1985; Hanna i Towill, 1995; Towill i Walters, 2000). Direktni uticaji

godine i sorte na klijavost polena komentarisani su u prethodno obrađenim temama koje se bave klijavošću polena, tako da na ovom mestu neće biti diskutovani.

Polen koji je čuvan na 20°C vrlo brzo je gubio klijavost, tako da je već posle četiri dana kod sorte G139 ona iznosila 0%, a kod ostalih sorti bila je manja od 2%. Posle 12 dana čuvanja na sobnoj temperaturi klijavost polena svih sorti bila je jednaka nuli. Ovi rezultati su saglasni sa rezultatima koje su dobili drugi autori. Cerović i sar. (1992) navode da je posle 48 časova čuvanja na sobnoj temperaturi klijavost polena šest ispitivanih sorti oraha iznosila 2-14,8%. Prema rezultatima koje su izneli Luza i Polito (1985), klijavost polena većine sorti oraha bila je manja od 5% već posle 28 časova čuvanja na sobnoj temperaturi. Takođe, Luza i Polito (1988b) su posle šest dana čuvanja na sobnoj temperaturi utvrdili potpuni gubitak klijavosti polena svih osam ispitivanih sorti oraha.

Gubitak klijavosti polena čuvanog na 4°C bio je znatno sporiji nego kod polena koji je čuvan na 20°C, tako da je i posle 12 dana čuvanja kod svih sorti bilo klijavog polena, pri čemu je klijavost polena sorte Elit iznosila 7,7%, a sorte G139 svega 0,1%. Znatno brži pad klijavosti polena u svojim ogledima ustanovili su Cerović i sar. (1992), koji navode da je prosečna klijavost svežeg polena šest sorti oraha iznosila 48,9%, da bi posle 21 časa čuvanja u frižideru na 4°C ona bila smanjena na svega 7%. Međutim, Griggs *et al.* (1971) su polenom koji je čuvan 20 dana pri relativnoj vlažnosti vazduha 40% na temperaturi 1°C oprašili ženske cvetove sorte Franquette i dobili 48% zametnutih plodova.

Grafički prikaz uticaja vremena čuvanja polena na njegovu klijavost na temperaturi 20°C najviše odgovara obliku opadajuće hiperbole, dok na temperaturi 4°C klijavost polena opada skoro linearno.

Za razliku od polena oraha, polen pojedinih vrsta voćaka ima sposobnost da dugo zadržava vitalnost i kada se čuva na temperaturama koje su iznad nule. Polen papaje (Cohen *et al.*, 1989), pekana (Yates *et al.*, 1991) i badema (Martínez-Gómez *et al.*, 2002) sačuvao je vitalnost oko dva meseca na temperaturi 4-5°C. Polen jabuke i kruške imao je dobru klijavost posle dve godine čuvanja na 2°C i 10% relativne vlažnosti vazduha (Visser, 1955), a polen masline je posle dve godine čuvanja na 4°C i relativnoj vlažnosti vazduha 10-33% uspešno izvršio oplodjenje i omogućio formiranje klijavog semena (Pinillos i Cuevas, 2005).



Starenje polena često je uzrokovano oksidativnim reakcijama, tako da polen koji sadrži veću količinu nezasićenih masnih kiselina obično brže gubi vitalnost (Hoekstra *et al.*, 1992). Pri niskoj temperaturi čuvanja polena smanjuje se mobilnost molekula u citoplazmi, što predstavlja jedan od najznačajnijih faktora dugoročnog održanja vitalnosti polena (Buitink *et al.*, 2000). U polenu koji se čuva u uslovima relativne vlažnosti vazduha 85% smanjuje se sadržaj vode na 25-30% u odnosu na sadržaj vode koji ima svež polen i intenzitet disanja postaje veoma nizak (Hoekstra i Bruinsma, 1975). Ako se polen čuva sa većim sadržajem vode, usled pojačanog intenziteta disanja, dolazi do većeg trošenja rezervnih materija i nagomilavanja produkata njihovog razlaganja, što verovatno predstavlja jedan od glavnih uzroka gubitka njegove vitalnosti. U uslovima male vlažnosti polena, kada je intenzitet disanja veoma nizak, gubitak vitalnosti polena najčešće je povezan sa gubitkom polupropustljivosti ćelijske membrane (Hoekstra *et al.*, 1992).

Kontrolisana hidratacija polena pre naklijavanja imala je veoma pozitivan efekat na klijavost polena kod svih sorti u obe godine istraživanja. Posle 12 dana čuvanja prosečna klijavost polena koji je bio rehidratiran pre naklijavanja bila je oko devet puta veća nego kod nehidratiranog polena.

Na značaj rehidratiranja polena pre naklijavanja ukazivali su brojni autori (Luza i Polito, 1985; Dereuddre i Gazeau, 1986; Hecker *et al.*, 1986; Luza *et al.*, 1987; Hanna i Towill, 1995). Golan-Goldhirsh *et al.* (1991) su primetili kod polena pistacije koji je bio podvrgnut brzom rehidratiranju nekontrolisano ispuštanje šećera, proteina, nekih drugih organskih materija i minerala kroz ćelijsku membranu iz polena u tečni medijum. Hoekstra *et al.* (1992) su pokazali da rehidratiranje polena na niskim temperaturama dovodi do razaranja plazma membrane i smrti ćelije, dok rehidratiranje na višim temperaturama ne izaziva disfunkciju membrane i održava vitalnost polena. Crowe *et al.* (1989) postavili su teoriju da se fosfolipidi u plazma membranama dehidratiranog polena nalaze u gel (čvrstom) stanju. U toku rehidratiranja polena fosfolipidi u plazma membrani prelaze iz gel stanja u stanje tečnog kristala i za vreme te tranzicione faze plazma membrane nisu sposobne da spreče propuštanje manjih molekula rastvorljivih u vodi, kao što su joni, amino kiseline, šećeri i dr. Ako se dehidratirane membrane zagreju iznad temperature prelaska iz gel stanja u stanje tečnog kristala pre nego što se polen izloži brzom rehidratiranju, fosfolipidi membrane ne podležu promeni stanja u

toku rehidratiranja i ne dolazi do nekontrolisanog gubitka materija iz citoplazme. Ako je polen delimično rehidratiran pre stavljanja u tečnu sredinu, temperatura tranzicije može biti smanjena tako da se fosfolipidi nalaze u stanju tečnih kristala i takođe neće doći do gubitka materija iz citoplazme.

Od svih varijanti ogleda, klijavost polena se najbolje održala kada je čuvanje polena obavljeno na temperaturi  $-18^{\circ}\text{C}$  u hermetički zatvorenim sudovima u kojima se nalazio zasićeni rastvor kalcijum hlorida, uz rehidratiranje polena pre naklijavanja. Posle 36 dana čuvanja u navedenim uslovima, najmanji gubitak klijavosti u odnosu na klijavost koju je imao svež polen utvrđen je kod polena sorte G251 (oko 20%). Kod sorti Šampion i Elit klijavost polena bila je skoro prepolovljena, dok je klijavost polena sorte G139 bila jednaka svega jednoj sedmini klijavosti svežeg polena. Prema podacima koje su izneli Cerović i sar. (1992), klijavost polena posle 60 dana čuvanja na  $-20^{\circ}\text{C}$ , u zavisnosti od sorte, iznosila je od 54,6% do 81,4% klijavosti koju je imao svež polen.

Cerović i sar. (1992) su takođe posle jedne godine čuvanja na  $-19^{\circ}\text{C}$  utvrdili potpuni gubitak klijavosti kod svih ispitivanih sorti oraha. Griggs *et al.* (1971) čuvali su polen jednu godinu pri relativnoj vlažnosti vazduha 40% na temperaturi  $-19^{\circ}\text{C}$ . Kada su sledeće godine oprašili ženske cvetove sorte Franquette svežim polenom, zametnulo je 11% plodova, dok je prilikom oprašivanja polenom iz prethodne godine, stepen zametnutih plodova iznosio 7%.

Na gubitak klijavosti polena značajan efekat imala je interakcija između sorte i uslova čuvanja. Najslabiju klijavost u svim uslovima čuvanja imao je polen sorte G139, što je saglasno sa rezultatima koje su prikazali Cerović i sar. (1992). Luza i Polito (1988b) uočili su takođe snažan uticaj sorte na gubitak klijavosti polena na različitim temperaturama.

## 9. ZAKLJUČAK

Na osnovu trogodišnjih ispitivanja morfogeneze i anatomsko-fizioloških karakteristika reproduktivnih organa oraha mogu se izvesti sledeći zaključci:

Prosečna debljina grančica iznosila je 8,41 mm, a po sortama je varirala od 7,85 mm (Šampion) do 9,01 mm (Elit). Vrlo visoko značajan uticaj na debljinu grančica ispoljili su genotip, dužina grančice i tip grančice. Na debljinu grančica značajan uticaj imala je godina, pri čemu je hidrološka situacija u godinama naročito došla do izražaja. Debljina grančica bila je u srednje jakoj pozitivnoj korelaciji sa dužinom grančica.

Iako su temperaturni i hidrološki uslovi u 2010, 2011. i 2012. godini bilo dosta različiti, godina nije ispoljila značajan uticaj na indeks izduženosti grančica, što znači da klimatski faktori deluju uravnoteženo na rast u dužinu i sekundarno debljanje mladara. Indeks izduženosti kod plodonosnih prirasta bio je manji nego kod letorasta.

Najmanji broj nodusa na grančicama iznosio je pet, a najveći 15. Najveći prosečan broj nodusa po grančici utvrđen je kod sorte Elit (9,50), a najmanji kod sorte Šampion (7,76). Jaka pozitivna zavisnost između broja nodusa na grančici i debljine grančice ukazuje da je kod mladara sa većim brojem listova intenzivnije sekundarno debljanje. Duže grančice nisu imale proporcionalno veći broj nodusa, što znači da dužina grančica više zavisi od dužine internodija nego od broja internodija.

Činjenica da je samo 0,74% plodonosnih prirasta imalo manje od šest nodusa, dok je udeo letorasta sa manje od šest nodusa bio oko sedam puta veći (5,20%) sugerira pretpostavku da broj diferenciranih nodusa na osovini budućeg mešovitog pupoljka predstavlja kritičan faktor za započinjanje diferencijacije ženskih cvasti.

Temperaturni i hidrološki uslovi u toku godine ispoljili su uticaj na diferencijaciju mešovitih pupoljaka. Broj mešovitih pupoljaka po grančici bio je u srednje jakoj pozitivnoj korelaciji sa brojem nodusa po grančici i sa debljinom grančice.

Kod plodonosnih prirasta na prvom nodusu utvrđen je manji udeo mešovitih pupoljaka nego kod letorasta, a na drugom i trećem nodusu prosečan broj mešovitih pupoljaka na plodonosnim prirastima bio je višestruko veći u odnosu na letoraste. Pretpostavka je da ženski cvetovi ili mladi plodovi deluju inhibitorno na indukciju ženskih cvasti u pupoljcima koji su im najbliži.

Na dužim grančicama utvrđen je veći broj mešovitih pupoljaka nego na kraćim grančicama. Ukupan broj mešovitih pupoljaka, kao i broj lateralnih mešovitih pupoljaka bio je veći na plodonosnim prirastima nego na letorastima.

Najveći udeo mešovitih pupoljaka utvrđen je na vršnom nodusu (0,88), dok se prema osnovi grančice on naglo smanjivao. Prema zastupljenosti bočnih mešovitih pupoljaka na rodnim grančicama, spontani sejanac M1 i sorta G139 pripadaju prelaznom tipu rađanja, dok se ostale sorte odlikuju terminalnim tipom rađanja.

Prosečan broj mešovitih pupoljaka na grančicama iznosio je 1,56. Najmanji broj mešovitih pupoljaka utvrđen je na grančicama sorte Šampion (0,95), a najveći na grančicama genotipova G139 (2,03) i M1 (1,96).

Najmanje oscilacija u broju mešovitih pupoljaka po grančici među ispitivanim genotipovima ispoljio je spontani sejanac M1, dok je kod sorte G251 uočena velika osetljivost na visoke temperature i smanjenu vlažnost vazduha i zemljišta. U savremenom plantažnom gajenju oraha prednost treba dati sortama kod kojih formiranje i ostvarivanje rodnog potencijala ne zavise u velikoj meri od ekoloških faktora.

Ukupan prosečan broj resa po grančici iznosio je 4,05. Najveći prosečan broj resa po grančici imala je sorta Šampion (5,61), a najmanji sorta Elit (2,96).

Kod svih genotipova rese su bile pretežno diferencirane na nodusima koji su se nalazili bliže osnovi mladara. Između broja resa i vegetativne snage rasta grančica utvrđena je negativna korelacija. Prisustvo ženskih cvetova na prvom nodusu negativno je uticalo na diferencijaciju resa, ne samo na tom i susednom nodusu, već i na čitavoj grančici. Najveći broj resa po grančici i po nodusu imale su izrazito protandrične sorte, dok su kod protoginičnih genotipova ovi parametri bili značajno manji.

Kod sorte Elit utvrđen je najveći broj vegetativnih pupoljaka po grančici (7,34), dok je kod sorti Šejnovo, G251 i Šampion on bio manji od dva. Kod dužih grančica utvrđen je veći prosečan broj vegetativnih pupoljaka po nodusu nego kod kraćih. Prosečan broj vegetativnih pupoljaka bio je manji na terminalnom položaju nego na subterminalnom. Između broja vegetativnih pupoljaka i broja resa na nodusima i po grančici utvrđena je srednje jaka negativna korelacija.

Na strukturu jednogodišnjeg drveta godina nije imala značajan uticaj što ukazuje na stabilan odnos između rasta i rađanja ispitivanih stabala u periodu u kojem su vršena istraživanja.

Ukupna prosečna zastupljenost vegetativnih prirasta među jednogodišnjim grančicama iznosila je 1,3%. Najveći udeo muških grančica utvrđen je u kategoriji najkraćih prirasta (grančice dužine do 6 cm), dok se sa povećanjem dužine i debljine grančica on smanjivao. Zastupljenost muških grančica među plodonosnim prirastima bila je dvostruko veća nego među letorastima. Povećanje udela muških grančica među plodonosnim prirastima usledilo je prvenstveno na račun sadržaja kombinovanih grančica, što znači da je prisustvo ženskih cvetova na plodonosnim mladarima ispoljilo jači negativan uticaj na diferencijaciju novih ženskih cvasti nego na diferencijaciju resa.

Najveći udeo ženskih grančica utvrđen je kod sorte G139, dok kod sorti Šejnovo i G251 nije pronađena nijedna ženska grančica. Sa povećanjem dužine grančica povećavao se udeo ženskih grančica u strukturi jednogodišnjeg drveta. Među plodonosnim mladarima bilo je više ženskih grančica nego među letorastima.

Ukupan prosečan udeo kombinovanih grančica u strukturi jednogodišnjih grančica iznosio je 78,5%. Među dužim grančicama bilo je više kombinovanih grančica nego među kratkim. Letorasti su imali veći broj kombinovanih grančica nego plodonosni prirasti.

Ženske grančice i kombinovane grančice predstavljaju rodne grančice oraha jer se na njima formiraju plodovi. Ukupan prosečan udeo rodnih grančica u strukturi jednogodišnjeg drveta iznosio je 86,5%. Najveći broj rodnih grančica utvrđen je kod sejanca M1 (93,3%), sorte Elit (92,2%) i sorte G139 (91,1%), a najmanji kod sorte Šampion (74,4%). Za proizvodnu praksu važno je da njihov udeo u strukturi jednogodišnjeg drveta bude što veći. Utvrđena je pozitivna korelacija između broja rodnih grančica i dužine grančice, debljine grančice i broja nodusa na grančici. Među letorastima udeo rodnih grančica bio je veći nego kod plodonosnih prirasta.

Na segmentiranoj osovini mešovitoj pupoljka nalaze se primordije različitih kategorija listova, u čijim pazusima mogu biti diferencirane vegetativne kupe, a na vrhu osovine pupoljka izdiferencirana je cvast sa jednim ili više ženskih cvetova. Ukupan prosečan broj lisnih primordija na osovini mešovitoj pupoljka u trogodišnjem periodu

ispitivanja iznosio je 18,1. Na broj ženskih cvetova u mešovitim pupoljcima uticali su položaj pupoljka na grančici, godina, genotip, dužina grančice i tip grančice.

Ženska cvast oraha predstavlja klas koji se sastoji od kratke osovine, na kojoj se nalaze sedeći cvetovi. Cvet koji ima terminalnu poziciju u cvasti formira se po pravilu najkasnije. Broj cvetova u ženskim cvastima predstavlja genotipsku specifičnost koja je važna komponenta rodnog potencijala neke sorte. Kod ispitivanih sorti on je varirao od 1,9 (Šampion i Elit) do 2,7 (sejanac M1).

Ženski cvet oraha je apetalan, sa potcvetnim sinkarpnim tučkom, koji je izgrađen od dve karpele. Obavijen je involukrumom u čiji sastav ulaze čašični listići, brakteja i dve brakteole. U plodnikovoj šupljini nalazi se jedan sedeći, ortotropan, unitegmičan, krasinucelatan semeni zametak.

Prosečna dužina ženskih cvetova iznosila je 9 mm. Najveća prosečna dužina ženskih cvetova utvrđena je kod sorte Elit (10,1 mm), a najmanja kod spontanog sejanca M1 (8,0 mm). Na dužinu ženskih cvetova vrlo visoko značajan uticaj imali su godina i genotip. Ukupna prosečna širina ženskih cvetova bila je 3,6 mm. Razlike između genotipova u pogledu širine ženskih cvetova nisu bile značajne.

Prosečna dužina, kao i širina, semenih zametaka iznosila je 0,55 mm. Na dužinu semenih zametaka godina i genotip nisu ispoljili značajan uticaj, dok je širina semenih zametaka vrlo visoko značajno zavisila od genotipa.

Srednje jaka pozitivna korelacija utvrđena je između dužine i širine ženskih cvetova, kao i između dužine i širine semenih zametaka. Korelacija između dimenzija ženskih cvetova i dimenzija semenih zametaka bila je slaba.

Kod svih ispitivanih genotipova proces morfogeneze ženskog cveta odvija se sukcesivno i istim redosledom, što omogućava da bude predstavljen opštim modelom koji se sastoji od sledećih faza: 1) inicijacija začetka drške ženske cvasti; 2) inicijacija i rast začetaka ženskih cvetova; 3) inicijacija involukruma; 4) inicijacija primordija čašičnih listića; 5) inicijacija i rast karpela; 6) inicijacija i rast semenog zametka; 7) početak cvetanja; 8) puno cvetanje; 9) završetak cvetanja.

Inicijacija ženskih cvetova oraha kod genotipova sa ranijim listanjem dešava se prosečno u trećoj dekadi juna, a kod sorti sa kasnijim listanjem u toku prve i druge dekade jula. Kod protandričnih sorti na kraju vegetacionog perioda začeci ženskih cvetova imaju iniciran samo involukrum, dok su kod homogamnih ili protoginičnih

genotipova na začecima ženskih cvetova prisutne primordije čašičnih listića. Genotipovi čiji su začeci cvetova ušli u period mirovanja u nižim stadijumima diferencijacije, u proleće taj zaostatak nadoknađuju bržim tempom razvoja.

U okviru procesa makrosporogeneze i makrogametogeneze oraha mogu se definisati sledeće karakteristične faze: 1) diferencijacija i rast arhesporijalnih ćelija; 2) mejoza materinske ćelije makrospore i formiranje tetrada; 3) dvojedarni stadijum embrionove kesice; 4) četvorojedarni stadijum embrionove kesice; 5) osmojedarni stadijum embrionove kesice; 6) citološko organizovanje embrionove kesice do njene zrelosti za oplodjenje. U procesu makrogametogeneze kod oraha formira se monosporna, bipolarna, osmojedarna embrionova kesica *Polygonum* tipa.

Između mikrofenofaza u razvitku semenog zametka i karakterističnih stadijuma u procesima makrosporogeneze i makrogametogeneze utvrđen je visok stepen podudarnosti, što omogućava da se procesi u embrionovoj kesici mogu pratiti na osnovu morfoloških promena na semenom zametku.

Najranije počinju da cvetaju ženski cvetovi sejanca M1 (prosečno 18. IV), a zatim slede cvetovi sorti Šejnovo (23. IV), Šampion i G139 (27. IV), G251 (29. IV) i Elit (7. V). Vremenski razmak između početka cvetanja ženskih cvetova najranijeg i najkasnijeg genotipa iznosio je prosečno 19 dana. Cvetanje ženskih cvetova trajalo je najduže kod sejanca M1 (19 dana), a najkraće kod sorte Elit (13 dana).

Muška cvast oraha sastoji se iz osovine cvasti, na kojoj su u spiralnom rasporedu poređani muški cvetovi. Prosečna dužina resa u vreme pucanja antera iznosila je 120 mm, a širina 14,7 mm. Dužina resa varirala je od 85 mm kod sorte Šampion do 150,8 mm kod sorte Elit. Na dužinu resa vrlo visoko značajan uticaj imali su genotip i godina. Sorte sa ranijim resanjem imale su kraće rese od sorti sa kasnijim resanjem.

Pojedinačni muški cvetovi oraha su sitni, neugledni, bez kruničnih listića, sa četiri zelena čašična listića koji grade perijant. Sa spoljašnje strane perijanta nalaze se dve maljave brakteole i jedna brakteja, a sa unutrašnje strane perijanta gusto su raspoređeni prašnici. Prašnici imaju vrlo kratke filamente (1-2 mm), tako da antere izgledaju kao da su direktno pričvršćene za cvet.

Rese su sadržale prosečno 120 cvetova. Najveći broj cvetova po resi imali su sejanac M1 i sorta Elit (približno 139), dok je najmanji broj cvetova po resi utvrđen kod sorte Šejnovo (100,8). Između broja cvetova po resi i vremena listanja genotipova

utvrđena je jaka pozitivna korelacija. Između broja muških cvetova po resi i broja resa po grančici utvrđena je srednje jaka negativna korelacija.

Prosečan broj prašnika u muškim cvetovima iznosio je 18,8. Najveći prosečan broj prašnika po cvetu utvrđen je kod sorti G139 (19,8) i G251 (19,6), a najmanji kod sejanca M1 (17). Od osnove rese prema njenom vrhu smanjuje se broj prašnika u cvetovima. Na broj prašnika u cvetu vrlo visoko značajan uticaj imali su godina i genotip.

Prosečne dimenzije antera iznosile su: dužina 2,31 mm, širina 0,96 mm i debljina 0,75 mm. Najveću prosečnu dužinu antera imala je sorta Elit (2,53 mm), a najmanju sorta Šampion (2,10 mm). Pored genotipa, na dimenzije antera vrlo visoko značajan uticaj ispoljila je i godina. Između dužine antera i dužine resa utvrđena je jaka pozitivna korelacija. Sorte kasnijeg resanja imale su duže antere.

Na osnovu rasporeda pora, polenova zrna oraha su poliporatna, heteropolarna. Rastojanje između pora iznosilo je oko 16  $\mu\text{m}$  i nije zavisilo od genotipa. Površina egzine je mikroehinatna. Hidratirani polen oraha je oblatnosferoidnog oblika, dok je delimično dehidratirani polen ugnut na proksimalnom polu. Dužina polenovih zrna, u zavisnosti od genotipa, iznosila je od 40,5  $\mu\text{m}$  do 44,5  $\mu\text{m}$ , dok je širina polena imala vrednosti od 44,1  $\mu\text{m}$  do 48,3  $\mu\text{m}$ .

Na morfometrijske osobine polena, genotip je ispoljio značajan uticaj, dok uticaji godine i interakcije genotip  $\times$  godina, nisu bili značajni. To znači da se navedene morfometrijske osobine polena mogu koristiti za determinisanje sorti oraha.

Početak i dinamika ontogeneze muških cvetova oraha uslovljeni su genotipom i klimatskim uslovima. Vreme početka listanja je u jačoj korelaciji sa vremenom početka diferencijacije muških cvetova nego sa početkom diferencijacije ženskih cvetova. U kasnijim fazama diferencijacije muških cvetova tip dihogamije ispoljava jači uticaj na dinamiku ovog procesa u odnosu na vreme listanja.

Zahvaljujući postojanju korelacije između morfoloških promena na muškim reproduktivnim organima i histogenetskih procesa u sporogenim tkivima antera, moguće je definisati model za olakšano praćenje procesa mikrosporogeneze i mikrogametogeneze oraha posmatranjem fenoloških promena na muškim cvetovima.

Dinamika procesa mikrosporogeneze i formiranja mikrogametofita zavisi od tipa dihogamije. Kod protandričnih sorti ranog listanja diferencijacija sporogenog tkiva



počinje u junu, dok je prisustvo sporogenog tkiva u polenovim kesicama protoginičnih sorti, čak i kod genotipova ranog kretanja vegetacije, utvrđeno tek u martu.

Precizno definisanje vremena mejoze u resama oraha otežano je zbog sukcesivnog razvoja muških cvetova od osnove rese prema njenom vrhu. Istovremeno dok se u najnižim cvetovima rese formiraju tetrade, u njenim vršnim cvetovima najčešće je još prisutno sporogeno tkivo.

U procesu formiranja mikrogametofita oraha moguće je definisati sledeće razvojne periode od stadijuma tetrada do stadijuma dvonuklearnog polenovog zrna: 1. period tetrada; 2. period oslobađanja mikrospora iz tetrada; 3. prevakuolarni period; 4. rani vakuolarni period; 5. srednji vakuolarni period; 6. pozni vakuolarni period; 7. rani period sazrevanja polenovog zrna; 8. pozni period sazrevanja polenovog zrna.

Među proučavanim genotipovima najranijim početkom listanja odlikuje se sejanac M1 (prosečno 6. aprila), a zatim slede sorte Šejново, Šampion, G139, G251 i Elit. Rese počinju da praše najpre kod sorte Šejново (prosečno 15. IV), zatim kod sorte Šampion (17. IV), sejanca M1 (27. IV), sorte G139 (2. V), G251 (7. V), a najkasnije kod sorte Elit (11. V). Prašenje resa trajalo je najduže kod sorte Šejново i spontanog sejanca M1 (12 dana), a najkraće kod sorte G251 (osam dana). Sorte Šampion i Šejново su protandrične, dok su sorte G139, G251 i sejanac M1 protoginični. Sorta Elit je najčešće protoginična, ali u pojedinim godinama naginje homogamiji.

Prosečna klijavost polena sorte Šampion iznosila je 15,9%, Elita 15,6%, Šejнова 13,7% i G251 6,6%. Najveća prosečna klijavost polena ostvarena je pri koncentraciji agara 0,6% i 0,8%, saharoze 15%, borne kiseline 400 ppm i kalcijum hlorida 50 ppm.

Klijavost polena, zavisila je od genotipa i sadržaja agara, saharoze, borne kiseline i kalcijum hlorida u hranljivoj podlozi. Interakcije između navedenih faktora takođe su ispoljile značajan uticaj na klijavost polena, iz čega proizilazi zaključak da je prilikom ispitivanja klijavosti polena neke sorte potrebno prethodno odrediti optimalan sastav hranljive podloge. Sastav hranljive podloge uticao je značajno i na dužinu polenovih cevčica.

Klijavost polena svih ispitivanih sorti oraha značajno je zavisila od temperature. Optimalna temperatura za klijanje polena sorti Šejново i Šampion iznosila je  $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ , a sorti G139, G251 i Elit  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Utvrđena je slaba korelacija između procenta klijavosti

polena na temperaturi  $12\pm 1^{\circ}\text{C}$  i datuma cvetanja sorti, dok je kod sorti koje kasno resaju optimalna temperatura za klijanje polena bila viša u odnosu na sorte ranijeg resanja.

Genotip, temperatura, vreme čuvanja polena i stanje hidratisanosti polena pre naklijavanja imali su značajan uticaj na njegovu klijavost. Povećanje temperature i vremena skladištenja polena uticalo je negativno na klijavost polena. Kontrolisana hidratacija polena pre naklijavanja imala je pozitivan efekat na klijavost polena. Od svih varijanti oglada, klijavost polena se najbolje održala kada je čuvanje polena obavljeno na temperaturi  $-18^{\circ}\text{C}$ , u hermetički zatvorenim sudovima u kojima se nalazio zasićeni rastvor kalcijum hlorida, uz rehidratiranje polena pre naklijavanja.

## 10. LITERATURA

- Abbe E.C. 1974. Flowers and inflorescences of the "Amentiferae". Botanical Review 40: 159-261.
- Abbott D.L. 1977. Fruit bud formation in Cox's Orange Pippin. Long Ashton Research Station, Annual Report for 1976: 167-176.
- Acar I., Ak B.E. and Sarpkaya K. 2010. Effect of boron and gibberellic acid on *in vitro* pollen germination of Pistachio (*Pistacia vera* L.). African Journal of Biotechnology 9: 5126-5130.
- Angenent G.C., Franken J., Busscher M., Van Dijken A., Van Went J.L., Dons H.J.M., and Van Tunen A.J. 1995. A novel class of MADS box genes is involved in ovule development in petunia. Plant Cell 7: 1569-1582.
- Apostolova M. 2008. Genotypic specificities in the structure of walnut bearing wood in the ecological conditions of Čačak. Proceedings of the National Scientific and Technical Conference with international participation "Ecology and Health", Plovdiv, Bulgaria: 218-224.
- Atsmon D. and Galun E. 1962. Physiology of sex in *Cucumis sativus* L. Leaf age patterns and sexual differentiation of floral buds. Annals of Botany 26: 102-105.
- Bangerth F. 1994. Response of cytokinin concentration in the xylem exudate of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) to decapitation and auxin treatment and relationship of apical dominance. Planta 194: 439-442.
- Barnabas B. 1985. Effect of water loss on germination ability of maize (*Zea mays* L.) pollen. Annals of Botany 55: 201-204.
- Barnola P. and Crabbé J. 1991. La basitonie chez les végétaux ligneux, déterminismes et variabilité d'expression. In: Edelin C. (ed.), L'Arbre, biologie et développement. Naturalia Monspeliensia, Hors Série. pp. 381-396.
- Barthélémy D. and Caraglio Y. 2007. Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. Annals of Botany 99: 375-407.
- Barthélémy D., Sabatier S. and Pascal O. 1995. Le développement architectural du noyer commun *Juglans regia* L. (*Juglandaceae*). Forêt Entreprise 103: 61-68.
- Bedinger P. 1992. The remarkable biology of pollen. The Plant Cell 4: 879-887.

- Beineke W.F., Masters C.J. and Pennington S.G. 1977. Black walnut pollen storage and germination. 14<sup>th</sup> Southern Forest Tree Improvement Conference – June 14–16, University of Florida, Gainesville, USA, pp. 282–288.
- Bell A.D. 1991. Plant form. An illustrated guide to flowering plant morphology. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Belhadj S., Derridj A., Civeyrel L., Gers C., Aigouy T., Otto T. and Gauquelin T. 2007. Pollen morphology and fertility of wild Atlas pistachio (*Pistacia atlantica* Desf., *Anacardiaceae*). *Grana* 46:148-156.
- Benson M. and Welsford E.J. 1909. The morphology of the ovule and female flower of *Juglans regia* and of a few allied genera. *Annals of Botany* 23: 623-633.
- Bergamini A. and Ramina A. 1971. Contributo allo studio della differenziazione a fiore del Castagno (*Castanea sativa* L.). *Rivista Ortoflorofrutticoltura Italiana* 55: 484-491.
- Beyhan N. and Serdar U. 2008. Assessment of pollen viability and germinability in some European chestnut genotypes (*Castanea sativa* Mill.). *Horticultural Science* 35: 171-178.
- Beyhan N. and Serdar S. 2009. *In vitro* pollen germination and tube growth of some European chestnut genotypes (*Castanea sativa* Mill.). *Fruits* 64: 157-165.
- Bhojwani S.S. and Bhatnagar S.P. 2011. The Embryology of Angiosperms, 5th edition. Vikas Publishing House, Delhi, India.
- Bhojwani S.S. and Soh W.Y. 2001. Current trends in the embryology of Angiosperms. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Bland J. 1978. A comparison of certain aspects of ontogeny in the long and short shoots of McIntosh apple during one annual growth cycle. PhD Thesis, University Minnesota, St. Paul, USA.
- Boesewinkel F.D. and Bouman F. 1967. Integument initiation in *Juglans* and *Pterocarya*. *Acta Botanica Neerlandica* 16: 86-101.
- Bouman F. 1984. The ovule. In: Johri B.M. (ed.), *Embryology of Angiosperms*. Springer, Berlin, Germany, pp. 123-157.
- Brewbaker J.L. 1967. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. *American Journal of Botany* 54: 1069-1083.

- Brewbaker J.K. and Kwack B.H. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *American Journal of Botany* 50: 859-865.
- Brewbaker J.L. and Kwack B.H. 1964. The calcium ion and substances influencing pollen growth. In: Linskens H.F. (ed.), *Pollen physiology and fertilization*. North Holland Publishing Company, Amsterdam, The Netherlands, pp. 143-151.
- Brewbaker J. and Majumder S.K. 1961. Cultural studies of pollen population effect and self-incompatibility inhibition. *American Journal of Botany* 48: 457-464.
- Brown C.L. and Sommer H.E. 1992. Shoot growth and histogenesis of trees possessing diverse patterns of shoot development. *American Journal of Botany* 79: 335-346.
- Buban T. and Faust M. 1982. Flower bud induction in apple trees: internal control and differentiation. *Horticultural Reviews* 4: 174-203.
- Buitink J., Leprince O., Hemminga M.A. and Hoekstra F.A. 2000. The effects of moisture and temperature on the ageing kinetics of pollen: interpretation based on cytoplasmic mobility. *Plant, Cell and Environment* 23: 967-974.
- Bulatović S. 1985. Orah, lešnik i badem. Nolit, Beograd.
- Buszard D. and Schwabe W.W. 1995. Effect of previous crop load on stigmatic morphology of apple flowers. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 120: 566-570.
- Cai L.W., Bijl G., Vander P. and Wu C.D. 2000. Namibian chewing stick, *Diospyros lycioides*, contains antibacterial compounds against oral pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 909-914.
- Cakmak I. and Romheld V. 1997. Boron deficiency-induced impairment of cellular functions in plants. *Plant and Soil* 193:71-83.
- Cakmak I., Kurze H. and Marschner H. 1995. Short-term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower. *Physiologia Plantarum* 95: 11-18.
- Callejas R. and Bangerth F. 1997. Is auxin export of apple fruit an alternative signal for inhibition of flower bud induction? *Acta Horticulturae* 463: 271-277.
- Caraglio Y. and Barthélémy D. 1997. Revue critique des termes relatifs à la croissance et à la ramification des tiges des végétaux vasculaires. In: Bouchon J., de Reffye P. and Barthélémy D. (eds.), *Modélisation et simulation de l'architecture des végétaux*. INRA Editions, Paris, France, pp. 11-87.

- Catlin P.B. and Polito V.S. 1989. Cell and tissue damage associated with pistillate flower abscission of persian walnut. Hort Science 24: 1003-1005.
- Cerović R. 1997. Biologija oplodnje višnje. Zadužbina Andrejević, Beograd.
- Cerović S., Korać M. i Ninić-Todorović J. 1992. Klijavost i čuvanje polena domaćeg oraha (*Juglans regia* L.). Jugoslovensko voćarstvo 26: 17-22.
- Chailakhyan M.K. and Khrianin V.N. 1987. Sexuality in plants and its hormonal regulation, Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Chan B.G. and Cain J.C. 1967. The effect of seed formation on subsequent flowering in apple. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 91: 63-68.
- Chao S.H., Greenleaf A.L. and Price D.H. 2001. Juglone, an inhibitor of the peptidyl-prolyl isomerase Pin1, also directly blocks transcription. Nucleic Acids Research 29: 767-773.
- Clutter M.E. and Sussex I.M. 1965. Meiosis and sporogenesis in excised fern leaves grown in sterile culture. Botanical Gazette 126: 72-78.
- Cohen E., Lavi U. and Spiegel-Roy P. 1989. Papaya pollen viability and storage. Scientia Horticulturae 40: 317-324.
- Conner P.J. 2011. Optimization of *in vitro* pecan pollen germination. Hort Science 46: 571-576.
- Corner E.J.H. 1976. The seeds of dicotyledons, vol. 1. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Cornforth J.W., Milborrow B.V., Ryback G. and Wareing P.F. 1965. Chemistry and physiology of 'dormins' in sycamore. Identity of sycamore 'dormin' with abscisic acid. II. Nature 205: 1269-1270.
- Cox L.G. 1943. Preliminary studies on catkin forcing and pollen storage of *Corylus* and *Juglans*. Northern Nut Growers Association Annual Report 34: 58-60.
- Crowe J.H., Hoekstra F.A. and Crowe L.M. 1989. Membrane phase transitions are responsible for imbibitional damage in dry organisms. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 86: 520-523.
- Cuevas J., Rallo L. and Rapoport H.F. 1994. Initial fruit set at high temperature in olive, *Olea europaea* L. Journal of Horticultural Science 69: 655-672.
- Dama L.B. 2002. Effect of naturally occurring naphthoquinones on root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. Indian Phytopathology 55: 67-69.

- Dantas A.C.D.M., Peixoto M.L., Nodari R.O. and Guerra M.P. 2005. Viabilidade do pólen e desenvolvimento do tubo polínico em macieira (*Malus* spp). Revista Brasileira de Fruticultura 27: 356-359.
- Davis G.L. 1966. Systematic embryology of Angiosperms. McGraw Hill Book Company, New York, USA.
- Dennis F.G. 1986. The physiology of flowering and fruit set in fruit trees. Proceedings of the Oregon Horticultural Society 77: 33-43.
- Dennis F.Jr. 2003. Flowering, pollination and fruit set and development. In: Ferree D.C. and Warrington I.J. (eds.), Apples: Botany, Production and Uses. CAB International, Wallingford, UK, pp. 153-166.
- Dereuddre J. and Gazeau C. 1986. La resistance naturelle au gel chez les vegetaux. Bulletin de la Société botanique de France 133: 7-25.
- Distefano G., Hedhly A., Casas G.L., Malfa S.L., Herrero M. and Gentile A. (2012) Male-female interaction and temperature variation affect pollen performance in Citrus. Scientia Horticulturae 140: 1-7.
- Dowding P. 1987. Wind pollination mechanisms and aerobiology. International Review of Cytology 107: 42-437.
- Ducousso I., Sabatier S., Barthélémy D. and Germain E. 1995. Comparaison de quelques caractéristiques morphologiques des pousses annuelles et des branches de la cime de sept variétés de Noyer commun, *Juglans regia* L. (*Juglandaceae*). In: Bouchon J. (ed.), Architecture des arbres fruitières et forestieres. INRA Editions, Paris, France, Les Colloques 74: 91-108.
- Durner E.F. 2013. Principles of horticultural physiology. Cabi Publishing, Wallingford, UK.
- Dzhuvinov V. and Gandev S. 2014. Walnut breeding – modern trends of development. Journal of Mountain Agriculture on the Balkans 17: 176-191.
- Ehrendorfer F. 1989. Woody plants - evolution and distribution since the tertiary. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Egea J., Burgos L., Zoroa N. and Egea L. 1992. Influence of temperature on the *in vitro* germination of pollen of apricot (*Prunus armeniaca* L.). Journal of Horticultural Science 67: 247-250.

- Endress P.K. 2011. Angiosperm ovules: diversity, development, evolution. *Annals of Botany* 107: 1465-1489.
- Erdemoglu N., Küpeli E. and Yesilada E. 2003. Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plant used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 89: 123-129.
- Erdtman G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms. Almqvist and Wiksell, Stockholm, Sweden.
- Evrenosoğlu Y. and Misirli A. 2009. Investigations on the pollen morphology of some fruit species. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 33: 181-190.
- FAOSTAT.2015.<http://faostat.fao.org/>. Datum pristupa 22.02.2015.
- Feldman K.S., Saharabudhe K., Smith R.S. and Scheuchenzuber W.J. 1999. Immune-stimulation by plant polyphenols: Relationship between tumor necrosis factor-production and tannin structure. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 9: 985-990.
- Feucht W. 1976. Fruitfulness in pome and stone fruits. Washington State University, Extension. *Bulletin* 665: 1-32.
- Fernandez-Escobar R., Gomez-Valledor G. and Rallo L. 1983. Influence of pistil extract and temperature on *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of olive cultivars. *Journal of Horticultural Science* 58: 219-227.
- Forde H.I. 1981. Persian walnuts in the western United States. In: Jaynes R.A. (ed.), *Nut tree culture in North America*, 2nd ed. The Northern Nut Growers Association, Inc., Hamden, CT, USA, pp. 84-97.
- Forde H.I. and McGranahan G.H. 1996. Walnuts. In: Janick J. and Moore J.N. (eds.), *Fruit Breeding, Volume III: Nuts*. John Wiley and Sons, Inc., New York, USA, pp. 241-273.
- Friedman J. and Barrett S.C.H. 2008. A phylogenetic analysis of the evolution of wind pollination in the angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* 169: 49-58.
- Friedman J. and Barrett S.C.H. 2011. The evolution of ovule number and flower size in wind-pollinated plants. *The American Naturalist* 177: 246-257.
- Fulford R.M. 1966a. The morphogenesis of apple buds. II. The development of the bud. *Annals of Botany* 30: 27-38.



- Fulford R.M. 1966b. The morphogenesis of apple buds. III. The inception of flowers. *Annals of Botany* 30: 207-219.
- Fulford R.M. 1966c. The morphogenesis of apple buds IV. The effect of fruit. *Annals of Botany* 30: 597-606.
- Galletta G.J. 1983. Pollen and seed management. In: Moore J.N. and Janick J. (eds.), *Methods in fruit breeding*. Purdue University Press, West Lafayette, IN, USA, pp. 23-47.
- Gao Y., Liu H., Dong N. and Pei D. 2012. Temporal and spatial pattern of indole-3-acetic acid occurrence during walnut pistillate flower bud differentiation as revealed by immunohistochemistry. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 137: 283-289.
- Gao Y., Liu H. and Pei D. 2014. Morphological characteristics and in situ auxin production during the histogenesis of staminate flowers in precocious walnut. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 139: 185-190.
- Garrison R. 1955. Studies in the development of axillary buds. *American Journal of Botany* 42: 257-266.
- Garrison R. and Wetmore R.H. 1961. Studies in shoot-tip abortion: *Syringa vulgaris*. *American Journal of Botany* 48: 789-795.
- Germain E. 1990. Inheritance of late leafing and lateral bud fruitfulness in walnut (*Juglans regia* L.), phenotypic correlations among some traits of the trees. *Acta Horticulturae* 284: 125-134.
- Germain E. 1992. Le noyer. In: Gallais A., Bannerot H. (eds.), *Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection*. INRA, Paris, France, pp. 125-134.
- Germain E. 1997. Genetic improvement of the Persian walnut (*Juglans regia* L.). *Acta Horticulturae* 442: 21-31.
- Germain E. 2004. Inventory of walnut research, germplasm and references. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO Regional Office for Europe, REU Tech Series 66, Rome, Italy.
- Germain E., Jalinat J. and Marchou M. 1973. Biologie florale du noyer (*Juglans regia* L.). *Bulletin Technique d'information* 282: 661-673.

- Germain E., Jalinat J. and Marchou M. 1975. Divers aspects de la biologie florale du noyer. In: Bergougnoux F. and Grosperre P. (eds), Le noyer. Paris, France, pp. 13-27.
- Giulivo C., Ramina A. 1974. Effetto di massa ed azione del calcio sulla germinazione del polline di alcune specie arboree da frutto. *Rivista Ortoflorofrutticoltura Italiana* 58: 3-13.
- Gleeson S.K. 1982. Heterodichogamy in walnuts: inheritance and stable ratios. *Evolution* 36: 892-902.
- Golan-Goldhirsh A., Schmidhalter U., Müller M. and Oertli J.J. 1991. Germination of *Pistacia vera* L. pollen in liquid medium. *Sexual Plant Reproduction* 4: 182-187.
- Gološin B., Cerović S., Ninić-Todorović J. i Bijelić S. 2005. Ispitivanje otpornosti oraha na niske temperature i prouzrokovane bolesti. *Letopis naučnih radova* 29: 155-158.
- Gordon D., Damiano C. and DeJong T.M. 2006. Preformation in vegetative buds of *Prunus persica*: factors influencing number of leaf primordia in overwintering buds. *Tree Physiology* 26: 537-544.
- Graham A. 1998. Studies in Neotropical paleobotany. XI. Late Tertiary vegetation and environments of southeastern Guatemala: palynofloras from the Mio-Pliocene Padre Miguel group and the Pliocene Herreria Formation. *American Journal of Botany* 85: 1409-1425.
- Griggs, W.H. and Iwakiri B.T. 1975. Pollen tube growth in almond flowers. *California Agriculture* 29: 4-7.
- Griggs W.H., Forde H.L., Iwakiri B.T. and Asay R.N., 1971. Effect of subfreezing temperature on the viability of Persian walnut pollen. *HortScience* 6: 235-237.
- Greene D.W. 1996. Flower development. In: Maib K.M., Andrews P.K., Lang G.A. and Mullinix K. (eds.), *Tree fruit physiology: growth and development*. Good Fruit Growers, Yakima, WA, USA, pp. 91-98.
- Greenway C.A. and Harder L.D. 2007. Variation in ovule and seed size and associated size-number trade-offs in Angiosperms. *American Journal of Botany* 94: 840-846.
- Hall G.C. and Farmer R.E.Jr., 1971. *In vitro* germination of black walnut pollen. *Canadian Journal of Botany* 49: 799-802.

- Hallé F. and Martin R. 1968. Etude de la croissance rythmique chez *Hevea brasiliensis* Müll. Arg (*Euphorbiaceae* – *Crotonoïdées*). *Adansonia*, Série 2, 8: 475–503.
- Hanna W.W. and Towill L.E. 1995. Long-term pollen storage. *Plant Breeding Reviews* 13: 179-207.
- Harborne J.B. 1988. Introduction to ecological biochemistry. Academic Press, London-New York.
- Harder L.D. and Prusinkiewicz P. 2013. The interplay between inflorescence development and function as the crucible of architectural diversity. *Annals of Botany* 112: 1477-1493.
- Hecker R.J., Stanwood P.C. and Soulis C.A. 1986. Storage of sugar beet pollen. *Euphytica* 35: 777-783.
- Hedhly A., Hormaza J.I. and Herrero M. 2004. Effect of temperature on pollen tube kinetics and dynamics in sweet cherry, *Prunus avium* (Rosaceae). *American Journal of Botany* 91: 558-564.
- Hedhly A., Hormaza J.I. and Herrero M. 2005. Influence of genotype-temperature interaction on pollen performance. *Journal of Experimental Biology* 18: 1494-1502.
- Heslop-Harrison J. 1963. Sex expression in flowering plants. Meristem and differentiation. *Brookhaven Symposia in Biology* 16: 109-125.
- Heslop-Harrison J. 1964. Cell walls, cell membranes and protoplasmic connections during meiosis and pollen development. In: Linskens H.F. (ed.), *Pollen physiology and fertilization*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, The Netherlands, pp. 29-47.
- Heslop-Harrison J. 1979. An interpretation of the hydrodynamics of pollen. *American Journal of Botany* 66: 737-743.
- Heslop-Harrison J., Heslop-Harrison Y. and Shivanna K.R. 1984. Theoretical and Applied Genetics 67: 367-375.
- Hesse M., Halbritter H., Weber M., Buchner R., Frosch-Radivo A. and Ulrich S. 2009. *Pollen terminology: an illustrated handbook*. Springer Wein, New York, USA.
- Hickey M. and King C.J. 1981. 100 families of flowering plants. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- Hoad G.V. 1984. Hormonal regulation of fruit-bud formation in fruit trees. *Acta Horticulturae* 149: 13-23.
- Hoekstra F.A. and Bruinsma J. 1975. Respiration and vitality of binucleate and trinucleate pollen. *Physiologia Plantarum* 34: 221-225.
- Hoekstra F.A. and Van der Wal E.G. 1988. Initial moisture content and temperature of imbibition determine extent of imbibitional injury in pollen. *Journal of Plant Physiology* 133: 257-262.
- Hoekstra F.A., Crowe J.H., Crowe L.M. and van Bilsen D.G. 1992. Membrane behavior and stress tolerance in pollen. In: Ottaviano E., Mulcahy D.L., Gorla M.S. and Mulcahy G.B. (eds.), *Angiosperm pollen and ovules*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp. 177-186.
- Holdaway-Clarke T.L. and Hepler, P.K. 2003. Control of pollen tube growth: role of ion gradients and fluxes. *New Phytologist* 159: 539-563.
- Holdaway-Clarke T.L., Weddle N., Kim S., Robi A., Parris C., Kunkel J. and Hepler P.K. 2003. Effect of extracellular calcium, pH and borate on growth oscillations in *Lilium formosanum* pollen tubes. *Journal of Experimental Botany* 54: 65-72.
- Huet J. 1972. Étude des effets des feuilles et des fruits sur l'induction florale des brachyblastes du Poirier. *Physiologie Végétale* 10: 529-545.
- Huet J. 1973. Floral initiation in pear trees. *Acta Horticulturae* 34: 193-198.
- Impiumi G. and Ramina A. 1967. Ricerche sulla biologia florale e di fruttificazione del noce (*J. regia*). *Rivista di Ortoflorofrutticoltura Italiana* 51: 538-543.
- Ingrouille M. and Eddie B. 2006. *Plants. Diversity and evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Izadyar A.B. 1997. Anatomical aspects of alternate bearing in apple trees. *Acta Horticulturae* 435: 255-260.
- Janković D. 1998. Mikrofenofaze u diferenciranju ženskih cvetova oraha. *Jugoslovensko voćarstvo* 32, 121-122: 97-102.
- Janković D. 2002. Genotipske specifičnosti u formiranju ženskog gametofita oraha. Doktorska disertacija. Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Lešak.
- Janković D. i Janković S. 2014. Posebno voćarstvo 3 – jezgraste voćke. Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Lešak.

- Janković D., Mitrović M. i Janković S. 2005. Algoritamska osnova ciklusa organogeneze oraha. *Traktori i pogonske mašine* 10, 2: 113-116.
- Janković D., Simić Lj. i Janković J. 2007. Dinamika diferencijacije ženskih cvetova oraha. *Agroznanje* 8: 69-74.
- Janković D., Janković S., Nikolić Z. i Paunović G. 2013. Malformations of reproductive organs in walnut (*Juglans regia* L.). IV International Symposium "Agrosym 2013", Book of Proceedings, pp. 352-357.
- Jelenković T. 1983. Gajenje oraha. Zadruga, Beograd.
- Jia H., Yang X., He F. and Li B. 2013. Anatomical studies of ovule development in the post-bloom pistils of the 'Zuili' plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B* 14: 800-806.
- Johri B. and Vasil I. 1961. Physiology of pollen. *Botanical Review* 27: 325-381.
- Johri B.M., Ambegaokar K.B. and Srivastava P.S. 1992. Comparative embryology of Angiosperms, vol. 1-2. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Jones R.G.W. and Lunt O.R. 1967. The function of calcium in plants. *Botanical Review*. 33: 407-426.
- Jongedijk E. 1985. The pattern of megasporogenesis and megagametogenesis in diploid *Solanum* species hybrids; its relevance to the origin of 2N-eggs and the induction of apomixis. *Euphytica* 34: 599-611.
- Jonkers H. 1979. Biennial bearing in apple and pear: a literature survey. *Scientia Horticulturae* 11: 303-317
- Kearns C.A. and Inouye D.W. 1993. Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado, Niwot, Colorado, USA.
- Kapp R.O., Davis O. and King J.E. 2000. Pollen and spores, 2nd edn. American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation, College Station, Dallas, Texas, USA.
- Karsten G. 1902. Über die entwicklung der weiblichen Blüten bei einigen Juglandaceen. *Flora* 90: 316-333.
- Kelc D., Štampar F. and Solar A. 2007. Fruiting behaviour of walnut tree influences relationships between morphometric traits of parent wood and nut weight. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 82: 439-445.

- Kelc D., Štampar F. and Solar A. 2010. Architectural traits of fruiting shoots in *Juglans regia* (*Juglandaceae*) related to fruiting habit and environmental conditions. *Australian Journal of Botany* 58: 141-148.
- Klee H.J. and Lanahan M.B. 1995. Transgenic plants in plant biology. In: Davies P.J. (ed.), *Plant hormones: physiology, biochemistry, molecular biology*, 2nd ed. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands, pp. 340-353.
- Knox R.B. 1984. The pollen grain. In: Johri B.M. (ed.), *Embryology of Angiosperma*. Springer Verlag, Berlin, Germany, pp. 197-271.
- Kondo S., Hayata Y. and Inoue K. 1999. Relationship between indole-3-acetic acid and flowering in two apple cultivars, 'Fuji' and 'Ohrin'. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 68: 563-565.
- Korać M. 1987. *Orah*. Nolit, Beograd.
- Korać M., Gološin B., Cerović S. i Korać J. 2001. Osobine novosadskih sorti i selekcija oraha. *Zbornik naučnih radova* 7: 229-233.
- Kozai N., Beppu K., Boonprakob U. and Kataoka I. 2005. Effect of flowering time on development of reproductive organs and fruit set of peaches. Reports from the Second International Workshop on Production technologies for low-chill temperate fruits, Chiang Mai, Thailand, pp. 105-109.
- Kremp O.W. 1965. *Morphologic encyclopedia of palynology*. University of Arizona Press, Tucson, USA.
- Krueger W.H. 2000. Pollination of English walnuts: Practices and problems. *HortTechnology* 10: 127-130.
- Kvaliashvili V., Samushia M., Vashakidze L., Abashidze E. and Marghania M. 2005. Studies of pollination, fertilisation and embryogenesis of Georgian walnut varieties. *Acta Horticulturae* 705: 275-280.
- Kwack B.H. 1965. The effect of calcium on pollen germination. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 86: 818-823.
- Landsberg J.J. 1979. From bud to bursting blossom: weather and the apple crop. *Weather* 34: 394-407.
- Langrová V. and Sladký Z. 1971. The role of growth regulators in the differentiation of walnut buds (*Juglans regia* L.). *Biologia Plantarum* 13: 361-367.

- Latorse M.P. 1985. Etude de divers aspects de la reproduction sexuée chez la Noyer (*Juglans regia* L.). Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux II.
- Lauri P.E., Delort F., Germain E. and Reynet P. 2001. Factors affecting nut weight in walnut (*Juglans regia* L.) – an analysis of genotypes with contrasting branching patterns. *Acta Horticulturae* 544: 265-273.
- Leroy J.F. 1955. Étude sur les *Juglandaceae*. Mémoires Musee Paris II, Botany 6: 1-246.
- Lin J. and Dickinson D.B. 1984. Ability of pollen to germinate prior to anthesis and effect of desiccation on germination. *Plant Physiology* 74: 746-748.
- Lin J., Shabany B. and Ramos D. 1977. Pistillate flower development and fruit growth in some English walnut cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 102: 702-705.
- Liu N., Liu J.T. and Zhang Q.Z. 2010. Ellagic acid-induced hypercoagulable state in animals: a potentially useful animal hypercoagulable model for evaluation of anticoagulants. *Chinese Medical Sciences Journal* 25: 237-242.
- López D.S. and Rodríguez B.G. 2008. Simple methods for in vitro pollen germination and pollen preservation of selected species of the genus *Agave*. *e-Gnosis* 6: 1-7.
- Losso N.J., Bansode R.R., Trappey A., Bawadi H.A. and Truax R. 2004. In vitro anti-proliferative activities of ellagic acid. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 15: 672-678.
- Loupassaki M, Vasilakakis M. and Androulakis I. 1997. Effect of pre-incubation humidity and temperature treatment on the *in vitro* germination of avocado pollen grains. *Euphytica* 94: 247-251.
- Luckwill L.C. 1974. A new look at the process of fruit bud formation in apple. *Proceedings of 19th International Horticultural Congress, Warsaw* 3, pp. 237-445.
- Lučić P., Đurić G. i Mičić N. 1996. Voćarstvo I: Biologija voćaka, rasadnička proizvodnja, pomotehnika, podizanje i oržavanje voćnjaka. Nolit, Partenon, Institut za istraživanje u poljoprivredi Srbija, Beograd.
- Luza J.G. and Polito V.S. 1985. In vitro germination and storage of English walnut pollen. *Scientia Horticulturae* 27: 303-316.

- Luza J.G. and Polito V.S. 1988a. Microsporogenesis and anther differentiation in *Juglans regia* L.: a developmental basis for heterodichogamy in walnut. *Botanical Gazette* 149: 30-36.
- Luza J.G. and Polito V.S. 1988b. Cryopreservation of English walnut (*Juglans regia* L.) pollen. *Euphytica* 37: 141-148.
- Luza J.G. and Polito V.S. 1991. Porogamy and chalazogamy in walnut (*Juglans regia* L.). *Botanical Gazette* 152: 100-106.
- Luza J.G., Polito V.S. and Weimbaum S.E. 1987. Staminate bloom date and temperature responses of pollen germination and the tube growth in two walnut (*Juglans*) species. *American Journal of Botany* 74: 1898-1903.
- Ljubojević M., Ognjanov V., Čukanović J. i Mladenović E. 2011. Selekcija slabobujnih podloga za višnju i trešnju. Zbornik radova III savetovanja "Inovacije u voćarstvu", Beograd, pp. 205-214.
- Manning W.E. 1940. The morphology of the flowers of the *Juglandaceae*. II. The pistillate flowers and fruit. *American Journal of Botany* 27: 839-852.
- Manning W.E. 1948. The Morphology of the Flowers of the *Juglandaceae*. III. The Staminate Flowers. *American Journal of Botany* 9: 606-621.
- Manning W.E. 1978. The classification within the *Juglandaceae*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 65: 1058-1087.
- Manos P.S. and Stone D.E. 2001. Evolution, phylogeny, and systematics of the *Juglandaceae*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 88: 231-269.
- Marquard R.D. 1992. Pollen tube growth in *Carya* and temporal influence of pollen deposition on fertilization success in pecan. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 117: 328-331.
- Martínez-Gómez P., Gradziel T.M., Ortega E. and Dicenta F. 2002. Low temperature storage of almond pollen. *HortScience* 37: 691-692.
- Mason M.G., Ross J.J., Babst B.A., Wienclaw B.N. and Beveridge C.A. 2014. Sugar demand, not auxin, is the initial regulator of apical dominance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111: 6092-6097.
- Mauseth J.D. 1988. *Plant anatomy*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., California, USA.



- McGranahan G.H. and Leslie C. 2012. Walnut. In: Badenes M.L. and Byrne D.H. (eds.), Fruit breeding. Springer, Berlin, Germany, pp. 827-846.
- Mckee J. and Richards A.J. 1998. The effect of temperature on reproduction in five *Primula* species. *Annals of Botany* 82: 359-374.
- Meeuse A.D.J. 1966. Fundamentals of phytomorphology. Ronald Pess, New York, USA.
- Mellenthin W.M., Wang C.Y. and Wang S.Y. 1972. Influence of temperature on pollen tube growth and initial fruit development in 'D'Anjou' pear. *HortScience* 7: 557-559.
- Meloche C.G. and Diggle P.K. 2001. Preformation, architectural complexity, and developmental flexibility in *Acomastylis rossii* (*Rosaceae*). *American Journal of Botany* 88: 980-991.
- Mercado J.A., Fernández-Muñoz R. and Quesada M.A. 1994. In vitro germination of pepper pollen in liquid medium. *Scientia Horticulturae* 57: 273-281.
- Mert C. 2009. Temperature responses of pollen germination in walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Environmental Sciences* 3: 37-43.
- Mert C. 2010. Anther and pollen morphology and anatomy in walnut (*Juglans regia* L.). *HortScience* 45: 757-760.
- Mićić N. 1992. Prilog klasifikaciji generativnih pupoljaka voćaka. *Jugoslovensko voćarstvo* 26, 97-98: 3-15.
- Mićić N. i Čmelik Z. 1983. Abortiranje vršnog dijela mladara nekih vrsta roda *Prunus*. *Radovi Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Sarajevu* 31, 35: 15-19.
- Mićić N., Blesić M., Đurić G. i Mališević E. 1987. Anatomsko-morfološke karakteristike zimskih pupoljaka i tipovi rodnih grančica oraha (*Juglans regia* L.). *Poljoprivredni pregled* 1, 2, 3: 19-27.
- Mićić N., Bajramović S. i Karlović J. 1989. Anatomsko-morfološka svojstva pupoljaka pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) sa posebnim osvrtom na njihov rast i razvitak u narednoj vegetaciji. *Poljoprivredni pregled* 1, 2 i 3: 65-77.
- Milatović D. 2013. Kajsija. Naučno voćarsko društvo Srbije, Čačak.
- Milatović D. 2014. Following walnut footprints in Serbia. In: Following Walnut Footprints (*Juglans regia* L.). Cultivation and Culture, Folklore and History, Traditions and Uses. ISHS, Leuven, Belgium, pp. 337-343.

- Milatović D., Đurović D. i Zec G. 2014. Morfološke osobine rodni grančica sorti kajsije. *Journal of Agricultural Sciences* 59, 3: 265-274.
- Milatović D., Nikolić M. i Miletić N. 2015. Trešnja i višnja. Naučno voćarsko društvo Srbije, Čačak.
- Miletić R., Korać M. i Petrović R. 2002. Biološke osobine i rodnost sorti oraha u Timočkoj krajini. *Jugoslovensko voćarstvo* 36, 139-140: 127-135.
- Milind P. and Deepa K. 2011. Walnut: not a hard nut to crack. *International Research Journal of Pharmacy* 25: 8-17.
- Millington W.F. 1963. Shoot tip abortion in *Ulmus americana*. *American Journal of Botany* 50: 371-378.
- Milošević T. 1987. Uticaj podloga na dinamiku rasta ploda, vegetativnog porasta i procesa diferencijacije generativnih pupoljaka šljive. Magistarski rad. Univerzitet u Sarajevu, Poljoprivredni fakultet.
- Milošević T. 1993. Uticaj podloge na vegetativni razvoj sorti šljive. *Poljoprivreda i šumarstvo* 39, 3-4: 33-41.
- Mitrović M. i Blagojević M. 2003. Fenološka proučavanja sorti i selekcija oraha. *Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik* 9: 201-205.
- Mišić P. 1987. Opšte oplemenjivanje voćaka. Nolit, Beograd.
- Mišić P. 2002. Specijalno oplemenjivanje voćaka. Nolit, Beograd.
- Molina R.T., Rodriguez A.M., Palacios I.S. and Lopez F.G. 1996. Pollen production in anemophilous trees. *Grana* 35: 38-46.
- Moore R., Clark W.D., Vodopich D.S., Stern K.R. and Lewis R. 1998. *Botany*. Second Edition. McGraw-Hill, Boston, USA.
- Nast C.G. 1935. Morphological development of the fruit of *Juglans regia*. *Hilgardia* 9: 454-466.
- Neilsen J.C. and Dennis F.G. 2000. Effects of seed number, fruit removal, bourse shoot length and crop density on flowering in 'Spencer Seedless' apple. *Acta Horticulturae* 527: 137-146.
- Nicoloff M.Th. 1904. Sur le type floral et le développement du fruit des Juglandées. *Journal de Botanique (Paris)* 18, 134-152, 380-385.
- Nicoloff M.Th. 1905. Sur le type floral et le développement du fruit des Juglandées. *Journal de Botanique (Paris)* 19: 63-84.

- Nikolić M. i Milivojević J. 2010. Jagodaste voćke - tehnologija gajenja. Naučno voćarsko društvo Srbije, Čačak.
- Okada T.A., Roberts E. and Brodie A.F. 1967. Mitotic abnormalities produced by juglone in Ehrlich ascities tumor cells. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 126: 583-588.
- Obermeyer G. and Blatt M.R. 1996. Electrical properties of intact pollen grains of *Lilium longiflorum*: characteristics of the non-germination grain. Journal of Experimental Botany 46: 803-813.
- Pallardy S.G. 2008. Physiology of woody plants, third edition. Elsevier, London, UK.
- Parihar M.C. and Bajpai P.N. 1992. Studies on pollen morphology, viability and germination in walnut (*Juglans regia* L.). Indian Journal of Agricultural Research 26: 30-34.
- Pfahler P.L. 1965. *In vitro* germination of rye (*Secale cereale* L.) pollen. Crop Science 5: 595-598.
- Pfahler P.L. 1967. *In vitro* germination and pollen tube growth of maize (*Zea mays* L.) pollen: calcium and boron effects. Canadian Journal of Botany 45: 839-845.
- Pfahler P.L. 1968. *In vitro* germination and pollen tube growth of maize (*Zea mays*) pollen. II. Pollen source, calcium, and boron interactions. Canadian Journal of Botany 46: 235-240.
- Pfahler P.L., Pereira M.J. and Barnett R.D. 1997. Genetic variation of *in vitro* sesame pollen germination and tube growth. Theoretical and Applied Genetics 95: 1218-1222.
- Pfundt M. 1910. Der Einfluss der Luftfeuchtigkeit auf die Lebensdauer des Blütenstaubes. Jahrbuch für Wissenschaftliche Botanik 47: 1-40.
- Pharis R.P. and King R.W. 1985. Gibberellins and reproductive development in seed plants. Annual Review of Plant Physiology 36: 517-568.
- Pinillos V. and Cuevas J. 2005. Conservación del polen de olivo (*Olea europaea* L.) a largo plazo. Métodos *in vivo* e *in vitro* para la estimación de su viabilidad. Fruticultura Profesional 149: 20-30.
- Pirlak L. 2002. The effects of temperature on pollen germination and pollen tube growth of apricot and sweet cherry. Gartenbauwissenschaft 67: 61-64.

- Pollegioni P., Olimpieri I., Woeste K.E., De Simoni G., Gras M. and Malvolti M.E. 2013. Barriers to interspecific hybridization between *Juglans nigra* L. and *J. regia* L. species. *Tree Genetics and Genomes* 9: 291-305.
- Polito V.S. 1998. Floral biology: flower structure, development, and pollination. In: Ramos, D.E. (ed.), *Walnut production manual*. University of California, Oakland, USA, pp. 127-132.
- Polito V.S. and Li N.Y. 1985. Pistillate flower differentiation in English walnut (*Juglans regia* L.): developmental basis for heterodichogamy. *Scientia Horticulturae* 26: 333-338.
- Polito V.S. and Pinney K. 1997. The relationship between phenology of pistillate flower organogenesis and mode of heterodichogamy in *Juglans regia* L. (*Juglandaceae*). *Sexual Plant Reproduction* 10: 36-39.
- Polito V.S., Weinbaum S.A. and Muraoka T.T. 1991. Adaptive responses of walnut pollen germination to temperature during pollen development. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 116: 552 - 554.
- Potts B.M. and Marsden-Smedley J.B. 1989. *In vitro* germination of Eucalyptus pollen: response to variation in boric acid and sucrose. *Australian Journal of Botany* 37: 429-441.
- Puntieri J., Barthélémy D., Martinez P., Raffaele E. and Brion C. 1998. Annual–shoot growth and branching patterns in *Nothofagus dombeyi* (*Fagaceae*). *Canadian Journal of Botany* 76: 673-685.
- Puntieri J.G., Souza M.S., Barthélémy D., Brion C., Nuñez M. and Mazzini C. 2000. Preformation, neoformation, and shoot structure in *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Blume (*Nothofagaceae*). *Canadian Journal of Botany* 78: 1044-1054.
- Radicati di Brozolo L., Me G., Vallania R. and Vergano G. 1990. Microsporogenesis, pollen germinability and viability in walnut cultivars with different blooming times: Methods and preliminary results. *Advances in Horticultural Science* 4: 139-143.
- Raghavan V. 1997. *Molecular embryology of flowering plants*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- Ramina A. 1969. Ricerche sulla biologia fiorale e di fruttificazione del noce (*Juglans regia* L.): 2) Differenziazione a fiore delle gemme. Rivista Ortoflorofrutticoltura Italiana 53: 480-489.
- Ramos D.E., Dejong T.M., Ryugo K., Olson W.H., Reil W.O., Sibbet G.S., Krueger W.H. and Snyder R.G. 1998. Pruning and tree thinning. In: Ramos D.E. (ed.), Walnut production manual. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, USA, pp. 147-158.
- Reiser L. and Fischer R. 1993. The ovule and embryo sac. The Plant Cell 5: 1291-1301.
- Ripetti V., Escoute J., Verdeil J.L. and Costes E. 2008. Shaping the shoot: the relative contribution of cell number and cell shape to variations in internode length between parent and hybrid apple trees. Journal of Experimental Botany 59: 1399-1407.
- Rodkiewicz B. 1970. Callose in cell walls during megasporogenesis in angiosperms. Planta 93: 39-47.
- Rosell P., Herrero M. and Saúco G.V. 1999. Pollen germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). *In vivo* characterization and optimization of *in vitro* germination. Scientia Horticulturae 81: 251-265.
- Ruibal B.I.J., Marta-Dubed E.M., Martínez F.L., Noa R.E., Vargas G.L.M. and Santana R.J.L. 2003. Inhibition of HIV replication by tannin extracts from *Pinus Caribaea* Morelet. Revista Cubana de Farmacia 37: 2-9.
- Ryugo K., Bartolini G., Carlson R.M. and Ramos D.E. 1985. Relationship between catkin development and cropping in the Persian walnut 'Serr'. HortScience 20: 1094-1096.
- Sabatier S. and Barthélémy D. 2001. Bud structure in relation to shoot morphology and position on the vegetative annual shoots of *Juglans regia* L. (*Juglandaceae*). Annals of Botany 73: 13-22.
- Sabatier S., Barthélémy D., Ducouso I. and Germain E. 1995. Nature de la pousse annuelle chez le Noyer commun, *Juglans regia* var. Lara (*Juglandaceae*): préformation hivernale et printanière. In: Bouchon J. (ed.), Architecture des arbres fruitiers et forestiers. INRA Editions, Paris, France, pp. 109-123.

- Sabatier S., Barthélémy D. and Ducouso I. 2003. Periods of organogenesis in mono- and bicyclic annual shoots of *Juglans regia* L. (*Jugandaceae*). *Annals of Botany* 92: 231-238.
- Sağlam H. and Gülcan R. 1995. Bazi meyve türlerinde çiçek tozu saklama yöntemleri. [Research on pollen storage methods in some tree fruit species.] *Türkiye II Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, 3-6 Ekim, 1995. Adana Cilt 1: 229-232.
- Sartorius R. and Stösser R. 1997. On the apomictic seed development in the walnut (*Juglans regia* L.). *Acta Horticulturae* 442: 225-229.
- Sattler R. 1973. Organogenesis of flowers. A photographic text-atlas. University of Toronto Press, Toronto, Canada.
- Segura-Aguilar J., Jönsson K., Tidefelt U. and Paul C. 1992. The cytotoxic effects of 5-OH-1, 4-naphthoquinone and 5,8-diOH-1, 4-naphthoquinone on doxorubicin-resistant human leukemia cells (HL-60). *Leukemia Research* 16: 631-637.
- Schanderl H. 1964. Untersuchungen über die Blütenbiologie und Embryonenbildung von *Juglans regia* L. *Biologisches Zentralblatt* 83: 71-103.
- Shivanna K.R. and Heslop-Harrison J. 1981. Membrane state and pollen viability. *Annals of Botany* 47: 759-770.
- Shivanna K.R. and Johri B.M. 1985. The Angiosperm pollen: Structure and function. Wiley Eastern Ltd., New Delhi, India.
- Shivanna K.R., Linskens H.F. and Cresti M. 1991. Pollen viability and pollen vigor. *Theoretical and Applied Genetics* 81: 38-42.
- Sidhu R.J.K. and Malik C.P. 1986. Metabolic role of boron in germinating pollen and growing pollen tubes. In: Mulcahy D.L., Mulcahy G.B. and Ottaviano E. (eds.), *Biotechnology and ecology of pollen*. Springer-Verlag, New York, USA, pp. 373-378.
- Singh V., Singh V. and Jain D.K. 1981. Taxonomy of angiosperms. Rastogi publications, Meerut, India.
- Sladký Z. 1972. The role of endogenous growth regulators in the differentiation processes of walnut (*Juglans regia* L.). *Biologia Plantarum* 14: 273-278.
- Smith C.L. and Romberg L.D. 1932. Pollination control, period of receptivity and pollen viability in the pecan. *Proceedings of the Texas Pecan Growers' Association* 12: 23-24.

- Solar A. and Štampar F. 2003. Genotypic differences in branching pattern and fruiting habit in common walnut (*Juglans regia* L.). *Annals of Botany* 92: 317-325.
- Solar A., Hudina M. and Štampar F. 2004. Fruiting habit and branching pattern affect vegetative growth and reproductive ability in walnut (*Juglans regia* L.). *Acta Horticulturae* 663: 387-392.
- Solar A., Solar M. and Štampar F. 2005. Growth dynamics and reproductive activity of annual shoots in the walnut cultivar 'Elit'. *Acta Agriculturae Slovenica* 85: 169-178.
- Solar A., Osterc G., Štampar F. and Kelc D. 2011. Branching of annual shoots in common walnut (*Juglans regia* L.) as affected by bud production and indol-3-acetic acid (IAA) content. *Trees* 25: 1083-1090.
- Soltész M., Nyéki J. and Szabó Z. 2003. Walnut (*Juglans regia* L.). In: Kozma P., Nyéki J., Soltész M., Szabó Z. (eds), *Floral biology, pollination and fertilisation in temperate zone fruit species and grape*. Akadémiai Kiado, Budapest, Hungary, pp. 451-466.
- Song J., Nada K. and Tachibana S. 1999. Ameliorative effect of polyamines on the high temperature inhibition of in vitro pollen germination in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Scientia Horticulturae* 80: 203-212.
- Spann T.M., Beede R.H. and DeJong T.M. 2007. Preformation in vegetative buds of pistachio (*Pistacia vera*): relationship to shoot morphology, crown structure and rootstock vigor. *Tree Physiology* 27: 1189-1196.
- Sparks D. and Yates I.E. 2002. Pecan pollen stored over a decade retains viability. *HortScience* 37: 176-177.
- Spichiger R.E., Savolainen V., Figeat M. and Jeanmonod D. 2004. *Systematic botany of flowering plants*. Science Publisher Inc., Plymouth, UK.
- Stanković J., Ralević R.N. i Ljubanović-Ralević I. 2002. *Statistika sa primenom u poljoprivredi*. Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun.
- Stanley R.G. and Linskens H.F. 1974. *Pollen biochemistry management*. Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin, Germany.
- Steer M.W. 1989. Calcium control of pollen tube tip growth. *The Biological Bulletin* 176: 18-20.

- Stanwood P.C. and Bass L.N. 1981. Seed germplasm preservation using liquid nitrogen. *Seed Science and Technology* 9: 423-437.
- Stoddard F.L. 1979. Pollen studies on *Vicia faba* L. I, Germination medium and incubation duration and temperature. *Pertanika* 2: 74-77.
- Stone D.E. 1993. *Juglandaceae*. In: Kubitzki K., Rohwer J.G. and Bittrich V. (eds.), *The families and genera of vascular plants 2*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp. 348-359.
- Stone D.E. and Broome C.R. 1975. *Juglandaceae* A. Rich. ex Kunth. *World Pollen and Spore Flora* 4: 1-35.
- Sukhvibul N., Whiley A.W., Vithanage V., Smith M.K., Doogan V.J. and Hetherington S.E. 2000. Effect of temperature on pollen germination and pollen tube growth of four cultivars of mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 75: 64-68.
- Sütyemez M. 2007. Determination of pollen production and quality of some local and foreign walnut genotypes in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 31: 109-114.
- Štefančič M., Štampar F. and Osterc G. 2006. Influence of endogenous IAA levels and exogenous IBA on rooting and quality of leafy cuttings of *Prunus* 'GiSelA 5'. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 81: 508-512.
- Taha N.A. and Al-wadaan M.A. 2011. Utility and importance of walnut, *Juglans regia* Linn: A review. *African Journal of Microbiology Research* 5: 5796-5805.
- Taylor R.M. 1972. Germination of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) pollen on the artificial medium. *Crop Science* 12: 243-244.
- Taylor P.L. and Hepler P.K. 1997. Pollen germination and tube growth. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48: 461-491.
- Towill L.E. 1985. Low temperature and freeze/vacuum-drying preservation of pollen. In: Kartha K.K. (ed), *Cryopreservation of plant cells and organs*. CRC Press Inc., Boca Raton, USA, pp. 171-198.
- Towill L.E. 2004. Pollen storage as a conservation tool. In: Guerrent E., Havens K. and Maunder M. (eds.), *Ex situ plant conservation: Supporting species survival in the wild*. Island Press, Washington, USA, pp. 180-188.



- Towill L.E. and Walters C. 2000. Cryopreservation of pollen. In: Engelmann F. and Takagi H. (eds.), Cryopreservation of tropical plant germplasm. Current research progress and application. Japan International Research Center for Agricultural Sciences/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Traverse A. 1988. Spores and pollen morphology. In: Traverse A. (ed.), Paleopalynology, 1st ed. Unwin Hyman Ltd, London, UK, pp. 60-116.
- Tromp J. 2005. Flower-bud formation. In: Tromp J., Webster A.D. and Wertheim S.J. (eds.), Fundamentals of temperate zone tree fruit production. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 204-215.
- Tsamouris G., Hatziantoniou S. and Demetzos C. 2002. Lipid analysis of Greek walnut oil (*Juglans regia* L.). Zeitschrift für Naturforschung C 57: 51-56.
- Tuinstra M.R. and Wedel J. 2000. Estimation of pollen viability in grain sorghum. Crop Science 40: 968-970.
- Van Tieghem P. 1869. Anatomie de la fleur femelle et du fruit du noyer. Bulletin de la Société Botanique de France 16: 412-420.
- Vasil I.K. 1960. Studies on pollen germination of certain *Cucurbitaceae*. American Journal of Botany 47: 239-248.
- Veličković M., Jovanović M. i Oparnica Č. 1997a. Uticaj različitih podloga na zastupljenost važnijih tipova rodni grančica u nekih sorti jabuke. Jugoslovensko voćarstvo 31, 117-118: 19-26.
- Veličković M., Jovanović M. i Oparnica Č. 1997b. Zastupljenost različitih tipova rodni grančica u važnijih sorti šljive. Jugoslovensko voćarstvo 31, 117-118: 83-88.
- Vergano G., Radicati L. and Martino I. 1990. Investigations on viability and germinability of English walnut pollen. Acta Horticulturae 284: 285-296.
- Visser T. 1955. Germination and storage of pollen. Medelingen van de Landbouwhoogeschoolte, Wageningen, Netherlands.
- Wang Q., Lu L., Wu X., Li Y. and Lin J. 2003. Boron influences pollen germination and pollen tube growth in *Picea meyeri*. Tree Physiology 23: 345-51.
- Webster A.D. 2005. Shoot growth. In: Tromp J., Webster A.D. and Wertheim S.J. (Eds.), Fundamentals of temperate zone tree fruit production. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 120-135.

- Weier T.E., Stocking C.R. and Barbour M.G. 1974. Botany (fifth edition). University of California, Davis, USA.
- Westwood M.N. 1993. Temperate-zone pomology: physiology and culture (3rd edition). Timber Press, Portland, Oregon, USA.
- Wetzstein H.Y. and Sparks D. 1985. Structure and in vitro germination of the pollen of pecan. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110: 778-781.
- Willemse M.T.M. 1992. Megasporogenesis and megagametogenesis. In: Cresti M. and Tiezzi A. (eds.), *Sexual plant reproduction*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp. 49-57.
- Willemse M.T.M. and Van Went J.L. 1984. The female gametophyte. In: Johri B.M. (ed), *Embryology of angiosperms*, Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp. 159-196.
- Wood R.N. 1934. Pollination and blooming habits of the Persian walnut in California. *USDA Technical Bulletin* 387.
- Wood W.B. 2011. Influence of plant bioregulators on pecan flowering and implications for regulation of pistillate flower differentiation. *HortScience* 46: 870-877.
- Woodworth R.H. 1930. Meiosis of microsporogenesis in the *Juglandaceae*. *American Journal of Botany* 17: 863-869.
- Wu K.Z., Xiao Q.W., Liao Y.H., Zhou L.Y. and Pu G.L. , 2008. Study on culture medium for walnut pollen germination in vitro. *Journal of Fruit Science* 6: 941-945.
- Xia X.Q. and Xi R.T. 1989. The periods of physiological and morphological differentiation of pistillate flower buds in walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Agricultural University of Hebei* 12: 18-21.
- Yates I.E., Sparks D., Connor C. and Towill L. 1991. Reducing pollen moisture simplifies long-term storage of pecan pollen. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 116: 430-434.
- Zielinski Q.B. 1968. Techniques for collecting, handling, germinating, and storing of pollen of the filbert (*Corylus* spp.). *Euphytica* 17: 121-125.

- Барна Н.Н. и Мацюк О.Б. 2011. Органогенез женских репродуктивных структур *Juglans regia* L. Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Серія Біологія 49: 5-16.
- Кавецька Г.О. 1964. Розвиток чоловічого гаметофіта горіха волоського. Український ботанічний журнал 21: 52-57.
- Литвак А.И. и Пынтя М.А. 1987. Гистохимия семяпочки грецкого ореха до опыления. Селекция и сортоизучение плодовых и ягодных культур. Штинца, Кишинев: 152-168.
- Поддубная-Арнольди В.А. 1982. Характеристика семейств покрытосеменных растений по цитозембриологическим признакам. Наука, Москва.
- Савченко М.И. 1973. Морфология семяпочки покрытосеменных растений. Наука, Ленинград.
- Холдоров У. 1975. Особенности цветения и плодоношения грецкого ореха в Таджикистане. Известия Академии наук Таджикской ССР, отделение биологических наук 2: 20-27.
- Цуркан И.П. и Пынтя М.А. 1987. Цветковые почки и морфогенез цветков грецкого ореха. Селекция и сортоизучение плодовых и ягодных культур. Штинца, Кишинев: 135-150.

## **BIOGRAFIJA AUTORA**

Diplomirani inženjer Slađana Janković rođena je 1. juna 1965. godine u Donjem Jasenoviku, opština Zubin Potok. Osnovnu školu završila je u Zubinom Potoku, a Gimnaziju (prirodno-tehnički smer) u Kosovskoj Mitrovici. Diplomirala je na Agronomskom fakultetu u Čačku 1990. godine sa prosečnom ocenom 8,27.

Od 2005. godine radi kao asistent za užu naučnu oblast Voćarstvo na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Prištini – Lešak.

Koautor je 9 naučnih i stručnih radova objavljenih u domaćim i međunarodnim časopisima.

Koautor je jednog udžbenika i jednog praktikuma.

Udata je i majka je dvoje dece.

Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписана: Слађана Ј. Јанковић

Број индекса: 08/32

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

"Морфогенеза и анатомско физиолошке карактеристике репродуктивних органа ораха (*Juglans regia* L.)"

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена докторска дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршила ауторска права и користила интелектуалну својину других лица.

**Потпис докторанда**

У Београду, мај 2016.

---

## Прилог 2.

### **Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације**

Име и презиме аутора: Слађана Ј. Јанковић

Број индекса: 08/32

Студијски програм: Пољопривредне науке – Воћарство и виноградарство  
Наслов докторске дисертације: "Морфогенеза и анатомско физиолошке карактеристике репродуктивних органа ораха (*Juglans regia* L.)"

Ментор: др Драган Милатовић, ванредни професор, Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

Потписана: Слађана Ј. Јанковић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији коју сам предала за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис докторанда**

У Београду, мај 2016.

---

### Прилог 3.

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

"Морфогенеза и анатомско физиолошке карактеристике репродуктивних органа ораха (*Juglans regia* L.)", која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предала сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучила.

1. Ауторство
2. Ауторство – некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на крају).

**Потпис докторанда**

У Београду, мај 2016.

---