



UNIVERZITET U BANJOJ LUCI

Poljoprivredni fakultet

mr Dejan Marinković

**GENOTIPSKE SPECIFIČNOSTI
U ORGANOGENEZI
REPRODUKTIVNIH ORGANA TREŠNJE
DOKTORSKA DISERTACIJA**

Banja Luka, 2021.



UNIVERSITY OF BANJA LUKA
Faculty of agriculture

Dejan M. Marinkovic, MSc.

**GENOTYPIC SPECIFICS
IN THE ORGANOGENESIS OF
CHERRY REPRODUCTIVE ORGANS**

DOCTORAL DISSERTATION

Banja Luka, 2021.

Mentor: Profesor dr Nikola Mičić, redovni profesor u penziji Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Banjoj Luci;

Naslov doktorske disertacije:

Genotipske specifičnosti u organogenezi reproduktivnih organa trešnje

Rezime

U radu su analizirane genotipske specifičnosti u obrazovanju i funkcionalnoj sposobnosti andreceuma i gineceuma na histomorfološkom nivou, izradom trajnih histoloških preparata, kod tri sorte (Burlat, Drojanova žuta i Stela) u periodu 2013–2015. u regionu Beograda (Padinska Skela).

Diferenciranje generativnih pupoljka u ranim fazama organogeneze trešnje (III–V etapa) odvija se po uobičajenoj matrici godišnjeg ciklusa razvoja skrivenosemenica, sinhronizovano i sukcesivno, po sledećem algoritmu: pojava osovina začetka cveta→pojava primordija cvetne lože→diferencijacija primordija čašičnih listića→pojava primordija kruničnih listića→diferenciranje gornjeg i donjeg niza primordija antera →pojava primordije karpela na dnu cvetne lože→razrastanje i izduživanje primordija perijanta, koji potpuno prekrivaju svih sve začetke organa pred zimu. Uočen je *sekretorni* tip tapetuma, *simultani* tip mejotičke deobe ćelija arhesporijalnog tkiva i *tetraedran* tip rasporeda mikrosporocita u tetradama.

Praćenje toka i dinamike proučavanih mikrofenofaza od početka mikrosporogeneze do pojave mladog polena pokazalo je kako je sortama bilo potrebno oko 14–15 dana rano u proleće za obavljanje ovih procesa, s prosečnom sumom aktivnih temperatura od 204° C i izraženom sortnom varijabilnošću u pogledu trajanja istih. Zabeležena relativno visoka klijavost polena (preko 42 %) upućuje na regularan tok diferenciranja andreceuma.

Proces makrosporo- i gametogeneze na histološkom nivou, sve do oplodnje i pojave globularnog embriona i nuelarnog endosperma kod ispitivanih sorti trešnje ukazao je na *proandrični* tip razvoja gineceuma. Sortama je bilo potrebno oko 46 dana sa prosečnom sumom aktivnih temperatura od 502° C za njegov razvoj, uz izraženu varijabilnost po sortama i godinama.

Izrađene algoritamske šeme, koje prikazuju redosled i dinamiku diferencijacije ćelija i tkiva u procesu organogeneze muških i ženskih reproduktivnih organa kod ispitivanih sorti za svaku oglednu godinu i raspoređenih precizno na vremenskoj skali, predstavljaju matricu za praćenje i upoređivanje tokova praćenih procesa na nivou sorte, a sve u cilju preciznog određivanja momenta

primene odgovarajućih agro- i pomotehničkih mera. Ovakav matematički model definiše biološku kontrolu u formiranju meristematskih struktura i diferencijaciji tkiva i organa, i dovodi je u funkcionalnu vezu sa ekološkim uslovima prisutnim u datom vremenskom toku.

Ključne reči: Trešnja, organogeneza, ekološki faktori, matematički modeli, algoritamska šema.

GENOTYPIC SPECIFICS IN THE ORGANOGENESIS OF CHERRY REPRODUCTIVE ORGANS

Summary

The paper analyzes the genotypic specificities in the formation and functional ability of the androecium and gynoecium at the histomorphological level, by making permanent histological compounds in three cultivars (Burlat, Drojanova žuta and Stela) in the period 2013–2015. in the Belgrade region (Padinska Skela).

Differentiation of generative buds in the early stages of cherry organogenesis (III-V stages) takes place according to the usual matrix of the annual cycle of development of the division of Magnoliophyta, synchronized and successively, according to the following algorithm: appearance of primordia of flower bud → differentiation of sepal primordia → appearance of petal primordia → differentiation of upper and lower row of primordia of anthers → appearance of primordia of carpels at the bottom of receptacle cavity → growth and elongation of primordia perianth, which completely cover all primordia of flower organs. The *secretory* type of tapetum, the *simultaneous* type of meiotic division of archesporial tissue cells and the *tetrahedral* type of microsporocyte distribution in tetrads were observed.

Monitoring the flow and dynamics of the studied microphenophases from the beginning of microsporogenesis to the appearance of young pollen grains showed that the varieties needed about 14-15 days early in the spring to perform these processes, with an average sum of active temperatures of 204° C and pronounced varietal variability in terms of their duration. The observed relatively high pollen germination rate (over 42%) indicates a regular course of androecium differentiation.

The process of macrosporogenesis and gametogenesis at the histological level, up to fertilization and the appearance of the globular embryo and nuclear endosperm in the tested cherry cultivars indicated a proandric type of gynoecium development. Varieties took about 46 days with an average sum of active temperatures of 502° C for its development, with pronounced variability by variety and year.

Made algorithmic schemes, which show the order and dynamics of cell and tissue differentiation in the process of organogenesis of male and female reproductive organs in the tested varieties for each experimental year and distributed precisely on the time scale, represent a matrix for monitoring and comparing the analysed processes at the variety level, just in order to precisely

determine the moment of application of appropriate agri- and pomotechnical rates. Such a mathematical model defines biological control in the formation of meristematic structures and differentiation of tissues and organs, and brings it into a functional connection with the ecological conditions presented in a given time course.

Key words: sweet cherry, organogenesis, ecological factors, mathematical models, algorithmic scheme.

Naučna oblast: Hortikultura (voćarstvo);

Naučno polje:

Klasifikaciona oznaka za datu naučnu oblast prema CERIF šifarniku:

Tip odabrane licence Kreativne zajednice: Autorstvo-nekomercijalno-bez prerada.

Mentor: PhD Nikola Mičić, retired full professor, Faculty of agriculture, University of Banja Luka;

Title of the doctoral dissertation: Genotypic specifics in the organogenesis of cherry reproductive organs;

Scientific area: Horticulture (fruit growing)

Scientific field:

Classification code (CERIF codebook):

Chooosed Licence type (Creative Commons): CC BY-NC-ND.

SADRŽAJ

1. UVOD	10
1.1. Poreklo i rasprostranjenost trešnje, citologija i reproduktivna biologija	10
1.2. Stadijno razviće voćaka u funkciji reproduktivne sposobnosti	16
1.3. Diferencijacija, morfogeneza i organogeneza	18
2. CILJ ISTRAŽIVANJA I RADNA HIPOTEZA	22
3. PREGLED LITERATURE	23
3.1. Specifičnosti organogeneze, arhitektura stabla, modeliranje u intenzivnim sistemima gajenja	23
3.2. Uticaj ekoloških faktora na realizaciju rodnog potencijala i modeliranje	39
3.3. Anomalije tokom sporogeneze, gameto- i embriogeneze	42
4. OBJEKAT, MATERIJAL I METODE RADA	51
4.1. Zasad	51
4.2. Sorte u ogledu	52
4.3. Metode rada	55
4.4. Histologija diferencijacije generativnih pupoljaka i naklijavanje polena	58
4.5. Histologija dinamike mikro- i makrosporogeneze	60
4.6. Modeliranje-algoritmi, matematički modeli suma aktivnih temperatura	61
5. EKOLOŠKI USLOVI	63
6. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	69
6.1. Diferencijacija generativnih pupoljaka	69
6.2. Mikrosporogeneza i formiranje polena	75
6.2.1. Ispitivanje klijavosti polena	81
6.3. Makrosporogeneza i embriogeneza do formiranja celularnog endosperma.....	82
6.4. Modeliranje ekoloških faktora	90
7. DISKUSIJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA	103
8. ZAKLJUČCI	118
9. REFERENCE	123

1. UVOD

1. 1. Poreklo i rasprostranjenost trešnje, citologija i reproduktivna biologija

Među brojnim vrstama koštičavog voća, po svom privrednom i hortikulturnom značaju naročito se ističe vrsta *Prunus avium* L., rodonačelnik sorti trešnje koje se danas koriste u proizvodnji širom sveta.

Trešnja je od davnina skrenula pažnju ljudi na sebe, po prijatnom ukusu i ranom sazrevanju plodova. I pored toga, danas postoji relativno malo dokaza o poreklu i razvoju kulture njenog gajenja i širenju.

Većina današnjih naučnih izvora potvrđuje evro–azijsko poreklo trešnje. Mišić (1987) navodi podatke Vavilova o blisko-istočnom gencentru, kao domovini porekla evropskih vrsta voćaka, s obzirom na postojanje nepreglednih šumskih biocenoza divljih vrsta jabučastog, jezgrastog i sitnog voća, ali i šljive, višnje i trešnje. Oblasti Male Azije, Kavkaza, Irana, i Gornjeg Turkmestana odlikuju se širokom genetičkom raznolikosti vrsta i formi pomenutih voćaka, i obuhvataju geografski ono što je danas poznato kao njihov primarni centar genetičke raznolikosti. Čiste šumske zajednice divlje trešnje (*Prunus avium* L.) tamo se sporadično susreću na oko 2000 m nadmorske visine, a na manjim nadmorskim visinama trešnja je pratilac listopadnih šuma graba, hrasta i bukve.

Prisustvo trešnje u šumama širom centralne i severne Evrope, Mediterana, Balkanskog poluostrva i južne Rusije, međutim, navela je pojedine istraživače na zaključak o Evropi kao sekundarnom gencentru trešnje, dakle mestu njene sekundarne migracije iz svoje postojbine. S obzirom na činjenicu da su pojedini delovi Evrope izbegli Ledeno doba, i da je malo verovatno vrlo rano spontano širenje divlje trešnje pre ovog perioda, današnje gledište prihvata Evropu kao deo šire postojbine vrste *Prunus avium* L. (Faust i Suranyi, 2011).

Sistematsko mesto trešnje (odeljak *Magnoliophyta* – skrivenosemenice; klasa *Magnoliatae* – dikotile; red *Rosales*; familija *Rosaceae* – ruže) vodi do roda *Prunus* L., u okviru kojeg je izvršena podela na 4 podroda na osnovu morfoloških osobina listova i plodova. Podrod *Cerasus* ima cvetove skupljene u racemozne cvasti, dok podsekciju *Eucerasus* Koehne odlikuju uspravni i šireći čašični listići sa pojedinačnim cvetnim pupoljcima, sedeće i štitaste cvasti sa postojanim pokrovnim listićima prisutnim u njihovoj osnovi. *Prunus* (*Cerasus*) *avium* L., trešnja vrapčara,

rodonačelnik je privredno značajnih sorti trešnje, a takođe se koristi i kao generativna podloga (sejanac) i roditelj u dobijanju dr. vegetativnih podloga za trešnju (serija MaxMa, Kolt i dr.).

Prvi pisani evropski tragovi o kultivisanju trešnje vode u I vek pre nove ere (grčki filozof i prirodnjak *Teofrast*), dok podaci o prvim kvalitetnim rimskim sortama dolaze od *Plinija Starijeg* (I vek nove ere), koji pominje teritoriju Pontusa (današnjih crnomorskih delova severnoistočne Turske, provincija Giresun) kao postojbinu kvalitetnih sorti. Danas se ova oblast smatra ishodištem imena trešnje. Naime, starogrčki toponim za poluostrvo i luku Kerasus (starogrčki izraz za 'stablo trešnje') poslužio je za izvođenje latinskog imena za podrod *Cerasus*, čiji je starogrčki koren prenet i u dr. evropske jezike (staroengleski *ciris*, nemački *kerse* ili *kirissa*, staroitalijanski *ciriega*, francuski *cerise*, španski *ceresa*, turski *kiraz* i ruski *cberesbnia*). Ova oblast takođe je poznata i kao postojbina jedne od najstarijih sorti trešnje 'Tatarska crna' koju je princ Potemkin preneo u Rusiju, a kasnije je ona uspešno introdukovana u Englesku a potom i u Severnu Ameriku. Najčešće se kultura trešnje širila kroz Evropu putem semena, o čemu svedoče i brojni fosilni ostaci iz rimskih i naseobina dr. naroda koji su je osvajali. Rimljani su preneli trešnju u Englesku u I veku nove ere.

Kako svedoči *Iezzoni A. F., 1984* (citat Brown et al., 1996) većina evropskih zemalja gajila je kultivisanu trešnju i pre XVI veka, uz postojanje brojnih lokalnih sorti čije su hortikulturne osobine bile značajno poboljšane tradicionalnim tehnologijama gajenja. *Prunus avium* L. je izrazito stranooplodna vrsta. Oplemenjivački programi u Evropi najpre su počivali na odabiranju genotipova iz populacije lokalnih sorti, kao i u njihovom korišćenju u ukrštanjima. Mnoge današnje savremene sorte i podloge imaju jednog od roditelja poreklom od pomenutih lokalnih genotipova, što svedoči o uspešnosti oplemenjivača da iskoriste ovo postojeće bogatstvo genetičke raznolikosti.

Svetska proizvodnja trešnje skoncentrisana je u oblastima koje obuhvataju granice postojbine trešnje, gde gde Mediteran apsolutno dominira u proizvodnji (preko 800.000 MT) i izvozu sveže trešnje. Na Severnoj zemljinoj hemisferi veliku proizvodnju i izvoz ostvaruju Iran (oko 160.000 MT) i SAD (preko 300.000 MT), daleko iznad lidera u proizvodnji trešnje na Južnoj hemisferi-Čilea sa oko 75.000 MT (FAOSTAT Database i NOVAGRIM Homepage, 2017). U proizvodnji još uvek dominiraju lokalni genotipovi čvrstog, hrskavog mesa (*Biggareau* tip ploda) koji su manje-više osetljivi na pucanje pokožice usled kiša pred i u vreme berbe plodova, poput sorti Burlat, Napoleon, Bing, 'Schneiders späte Knorpel' (starog nemačkog genotipa i njenih klonova koji se uspešno gaje u Turskoj i u više evropskih zemalja pod različitim imenima 'Ziraat 0900', 'Germersdorfer', 'Ferrovia', 'Belge', pa zasigurno spada u red trenutno najpopularnijih sorti trešanja u svetskoj proizvodnji), ali se sve više šire i sorte novijeg datuma, poput italijanskih Star-sorti, Celeste, Sunburst, Lapins, Carmen, Vera, Sweet Heart, Georgia, Regina...

Zemlje Balkana, izuzev Rumunije i Grčke (pojedinačno ostvaruju proizvodnju od preko 60.000 MT), imaju relativno skromnu proizvodnju trešnje koja iznosi oko 20.000 MT pojedinačno (Bugarska, Srbija, Albanija), s tendencijom daljeg rasta koji je vođen uvećanim izvozom i primenom novih tehnologija. U sortimentu dominiraju rane i rodne sorte koje postižu bolju cenu na tržištu (Milatović i sar., 2011; Valkanov, 2015).

Današnji ciljevi oplemenjivanja trešnje (Knight et. al., 2005) u oplemenjivačkim centrima širom sveta ukazuju na potrebu dobijanja genetičkog materijala prilagođenog nepovoljnim uslovima spoljne sredine (mraz, suša, topli vetrovi i visoka relativna vlažnost vazduha u vreme cvetanja i oplodnje), u smislu postizanja visoke i redovne rodnosti, a potom i proširenja sezone zrenja plodova kod trešnje. Brojni pomolozi primetili su kako trešnja i višnja bolje uspevaju u prohladnim regionima (citati Fausta M. i Suranyi, 2011), što je bilo povezano sa većim zahtevima vrste za niskim temperaturama (tzv. CHU jedinice) i većim potrebama za vodom. S druge strane, trešnje hruštavog (rskavog) ploda koje imaju čvrsto meso i krupne plodove, vrlo su podložne pucanju pokožice ukoliko su obilnije padavine prisutne u periodu neposredno pred i tokom berbe, a što je snažno uticalo na razvoj novih tehnologija gajenja. Tako se danas koriste različiti preparati protiv pucanja pokožice plodova trešnje, kao i preparata za proređivanje cvasti i plodova (Brown et al. 1995; Lenahan, Whiting, 2006; Long, 2006; Kappel, MacDonald, 2007), uz izdvajanje sorti sa krupnim i čvrstim (transportabilnim) plodovima i debelom pokožicom koja je tolerantna na pucanje (Demirsoy L. and H. 2004; Measham et al., 2009), itd.

Otopljanje klime na globalnom nivou često dovodi do nepovoljnog odvijanja fenoloških faza u godišnjem ciklusu razvoja voćaka, o čemu svedoče i brojne studije. Primack R. B. et al. (2009) su, prateći fenološke podatke u kontinuitetu od 1200 godina primetili kako su ornamentalne (ukrasne) hibridne vrste trešanja u Japanu tokom poslednjih decenija XX veka najranije cvetale, i nakon analize dobijenih rezultata to je protumačeno kao reakcija biljaka na regionalno i lokalno otopljanje klime. Rezultati dendrohronoloških ispitivanja u SAD-u putem primene određenih modela predviđanja razvoja klime su pokazala kako u kontinuitetu od 1200 godina neće biti izražajnijeg trogodišnjeg perioda sa jačom sušom i visokim temperaturama vazduha kao u periodu 2012-2014 na Američkom Zapadu a naročito u Kaliforniji. Ovo je dovelo do velikih potresa u proizvodnji badema, inače najotpornije gajene voćke na sušu, koji se ovde proizvede na nivou 80 % svetske proizvodnje. Stoga ne čudi što su napredne ekonomije već uveliko počele da razvijaju matematičke modele za formiranje sortimenta umerenokontinentalnih vrsta voćaka adaptiranog na novonastale uslove nedovoljnog broja sati sa akumuliranom niskom temperaturom (tzv. chilling-jedinice) i razradu novih tehnologija gajenja, kao što je to slučaj u Kaliforniji i Mediteranu (Campoy et al. 2011; Luedeling et al. 2009, Niederholzer, 2015).

Promena klimatskih uslova može uticati ne samo na ciklus zimskog mirovanja, već i na celokupnu fiziologiju biljke. Ispitivanjima je otkriveno da je početak i tok perioda zimskog mirovanja usmeren putem povezane reakcije voćaka na kvalitet i dužinu trajanja svetlosti (uslovljenog prisustvom umerenih temperatura) i na abiotičke stresove (hladnoću i sušu); ovi faktori utiču na fenotipsku plastičnost voćaka u smislu mogućeg produženja njihovog vegetativnog perioda i smanjenja rizika od oštećenja tkiva usled mrazeva i kasne aklimatizacije, ili usled letnjih suša. U slučaju abiotičkih faktora mogući su potpuno suprotni efekti, u smislu prekida procesa diferencijacije i abortiranja generativnih pupoljaka još u ranoj (programnoj) fazi diferencijacije (Mičić i Đurić, 1998). Biljke su razvile sistem fotoreceptora (fitohrome i kriptohrome) kako bi registrovale crvenu i infracrvenu, tj. plavu i UV svetlost u svetlosnom spektru, po redu. Sistem fitohroma ima ključnu ulogu u detekciji dužine dana kod stablašica jer on reguliše transkripcioni lokus T cvetanja (FT), koji pak modelira ritam rasta (diferenciranje i otvaranje pupoljaka). Ovaj lokus je, dakle, ključni objedinitelj termalnih signala i signala fotoperiodičnosti u kontroli ritma (ciklusa) rasta kod skrivenosemenica. Zamena samo jedne aminokiseline, međutim, može promeniti FT protein od aktivatora u jednog supresora cvetanja. Ograničena i antagonistička veza između mehanizama koji regulišu diferencijaciju pupoljaka i prekidanje perioda vegetacije i zametanja pupoljaka, preko regulacije FT i njima sličnih gena, ukazuje na načelni model regulacije dubokog zimskog mirovanja, s obzirom da ni nakon dvodeцениjskih ispitivanja još uvek nisu identifikovani temperaturni senzori u molekularnoj biologiji (Campoy et al. 2011).

Fitohromski sistem je takođe u međudejstvu i sa biosintezom biljnih hormona poput giberelina i abscisinske kiseline, iako njihova uloga u iniciranju perioda zimskog mirovanja nije sasvim razjašnjena. Ipak, dubina mirovanja jeste definisana brojnim faktorima unutar stabla. Primera radi, bujnost stabla može se definisati i ovako: što je stablo (grana) bujnije(a)-dublje je njegovo (njeno) zimsko mirovanje. Shodno tome, agro- i pometehničke mere koje smanjuju bujnost česte su u regionima gde potrebe za jarovizacijom nisu zadovoljene. Naime, fiziologija biljaka funkcioniše po sl. principu: akumulacija niskih temperatura (tzv. CHU-jedinica) u procesu indirektnog temperaturnog nadražaja, odnosno trajanja niskih temperatura koje biljke akumuliraju u početnim fazama razvoja, indukuje brže ili sporije prelaženje iz vegetativne u generativnu fazu razvoja tkiva u kasnijim fazama jednogodišnjeg ciklusa razvoja biljke. Generalno, mlada stabla imaju veće potrebe za CHU-jedinicama u odnosu na odrasla stabla kod iste sorte. Zahvati poput primene hormonskih retardanata rasta mogu promovisati prekid zimskog mirovanja, kao što slabo bujne podloge i one manje kompatibilne sa plemkom mogu uzrokovati ranije pokretanje pupoljaka i cvetanje, i suprotno (velika bujnost može umanjiti stepen pobuđivanja pupoljaka za diferencijaciju u generativnom pravcu). Pokretanje pupoljaka se ostvaruje ranije kod grana u horizontalnom položaju u odnosu na one uspravno orijentisane. Ovaj efekat se ostvaruje putem promene

hormonskog balansa u pupoljcima i usled smanjenja bujnosti nastalog povijanjem grana tokom vegetacije. Slično tome, obaranje grana izgleda da umanjuje transport auksina menjajući intenzitet mirovanja (kasnija rezidba manje je efektivna u prekidanju mirovanja bočnih vegetativnih pupoljaka). Vreme i tip rezidbe, stoga, imaju važan uticaj na bujnost stabla kao i na pojačanje apikalne dominacije (Campoy et al. 2011).

I pored izrazite sklonosti ka strano oplodnji trešnja *Prunus avium* L. je diploid sa malim brojem hromozoma (16) u somatskim ćelijama, iako se povremeno pojavljuju tri- i tetraploidne forme ($2n=24$ i 32 hromozoma). Razlog tome je sparivanje hromozoma (obrazovanje bivalenata) koje je kod unutarvrnog ukrštanja genotipova trešnje skoro u potpunosti pravilno (hijazme se retko javljaju). Kod trešnje temperature više od 18 °C, a ne one niske mogu dovesti do poremećaja u mejozi (Knight, 1969, citat *Lenander S. E. 1962*). S druge strane, kako navodi Mišić (2002), trešnja je u prirodnim populacijama često bila odgovorna za spontano dobijanje aloploidnih vrsta putem stranooprašivanja. Naime, pretpostavka je da se nastanak morfološki intermedijarne, a citološki tetraploidne ($4n$) međuvrste marele (*P. gondouinii* Poin et Turp.) odigrao spontanom oplodnjom normalnih gameta obične višnje (*P. cerasus* L.) sa neredukovanim ($2n$) polenom trešnje, s obzirom na veću vitalnost ovako dobijenih hibrida u odnosu na obrnuto ukrštanje (Knight, 1969, citat *Hruby K., 1962*). Pored toga, jedna od teorija nastanka obične višnje, alotetraploida koja je rodonačelnik najvećeg broja privredno značajnih sorti višnje, navodi kako je ona dobijena ukrštanjem neredukovanih gameta stepske višnje (*P. fruticosa* Pall., $2n = 16, 32$) i trešnje (*P. avium* L.). Pojava sterilnosti krajnje promenljivog intenziteta kod vrste *P. cerasus* L. ukazuje i na njeno autotetraploidno poreklo nastanka, barem kod nekih genotipova iz smeše kolonova u prirodnoj populaciji višnje (Pandy-višnje), koje su inače rodonačelnici današnjih vodećih mađarskih sorti višnje. I u slučaju ovakvih genotipova, sorte trešnje istovremenog cvetanja kao i njeni hibridi sa višnjom pokazale su se kao bolji oprašivači u odnosu na sorte višnje (Knight, 1969, citat *Maliga P., 1954*).

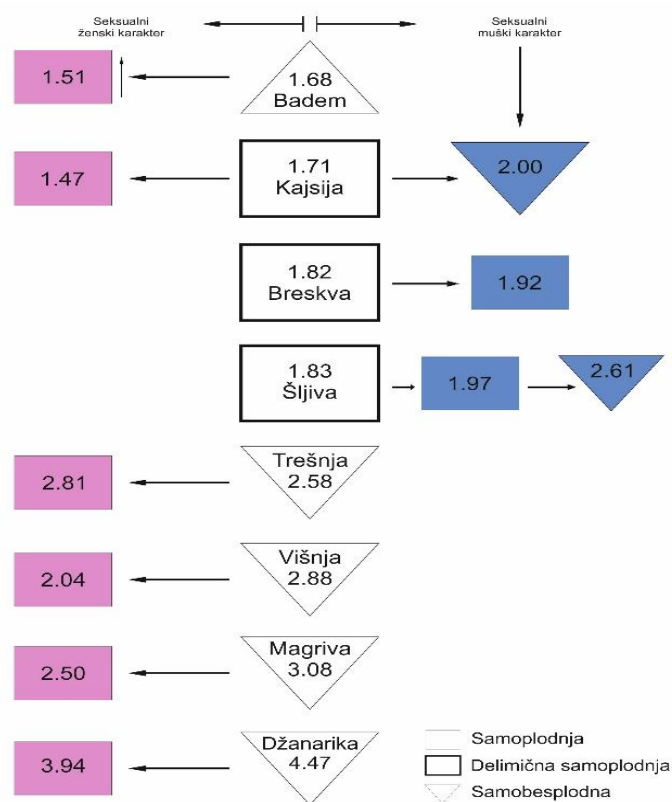
Pojava sterilnosti kod trešnje usled nepovoljnih uslova spoljašnje sredine (ekološka sterilnost) u smislu njene veće osetljivosti na visoke temperature tokom programne faze promene karaktera vegetativne kupe (Garcia-Montiel et al., 2010) evidentna je i u pogledu manje klijavosti polenovih zrna ali i nesinhronizovanog (dinamičnog) rasta polenove cevčice pri istim temperaturama (Hedhly et al, 2004). Vrste iz roda *Prunus*, kao i ostalo umereno kontinentalno voće, diferenciraju cvetne pupoljke samo u drugom delu vegetacije, uz evidentno kasni razvoj plodnika, koji je vidljiv pod mikroskopom tek u periodu oktobar-mart. Ovako pozan razvoj ženskih elemenata cveta može biti poremećen dejstvom visokih temperatura tokom njihovog razvoja. Ovo

često dovodi do pojave nedovoljne razvijenosti gineceuma, što se direktno odražava na loše zametanje plodova. Naime, cvetovi sa nedovoljno razvijenim plodnikom otpadaju sa stabala i pre nego što dođe do oplodnje.

Jedinstven pristup *Syranijs* u ispoljavanju seksualnog karaktera vrste kao dominantno ženske odnosno muške kod roda *Prunus* (Faust, 1989) ogledao se u poređenju broja prašnika spram veličine plodnika (*Sl. 1.*). Ovaj odnos svrstao je trešnju u samobesplodne vrste u kojoj blago preovlađuje muški karakter, s obzirom na dobijenu vrednost (2,18) koja je veća od odnosa koji obezbeđuje samooplodnost (1,7-1,9). Isti autor izvodi zaključak kako su vrste sa najizražajnijim muškim karakterom (magriva i džanarika) zapravo evolutivno najmlađe, što je podržano njihovom adaptivnošću u smislu kasnog cvetanja i sitnih cvetova. Sledeća grupa genotipova (višnja i trešnja) intermedijarna je u ekspresiji svoje seksualnosti, delimično je samobesplodna i odlikuje se najranijim cvetanjem. I pored navedenog, u poluekstenzivnim uslovima gajenja zasadi trešnje i višnje mogu doživeti starost i do 50 godina. Razvoj pojedinih elemenata cveta je hormonski uslovljen, ali s obzirom na dug period razvoja muških tj. ženskih elemenata cveta (oktobar-mart) nemoguće je ukazati na tačan momenat hormonskog dejstva.

Samobesplodnost i besplodnost između pojedinih sorti (gametofitna inkompatibilnost) je svakako jedna od najupečatljivijih reproduktivnih osobina trešnje (*Prunus avium* L.). Nemogućnost većine genotipova ove voćke da se oplode sopstvenim polenom, kao i polenom drugih genotipova iste S-alelne konstitucije, već decenijama zaokuplja veliku pažnju istraživača u oblasti reproduktivne biologije trešnje. Fiziološko objašnjenje zaustavljanja procesa oplodnje povezano je sa genski određenom sintezom istih enzima (belančevina izoperoksidaza) u stubiću tučka i u polenovoj cevčici, koji zajednički formiraju funkcionalni represor; izoenzim sintetisan u stubiću razara hormon rastenja (indol-sirćetnu kiselinu) u polenovoj cevčici, dovodeći do zaustavljanja njenog rasta i odsustva oplodnje. Potvrđeno je da je gametofitna inkompatibilnost kod trešnje pod kontrolom dva multipla alela u jednom S-lokusu, koji deluju nezavisno i međusobno intereaguju, određujući besplodnost (isti aleli) tj. oplodnju (različiti aleli).

Broj novootkrivenih S-alela u seriji kod trešnje neprestano se uvećava, dovodeći do porasta broja poznatih grupa inkompatibilnosti u okviru sortimenta trešnje. Trenutno detektovanih dvadesetak S-alela uslovalo je formiranje čak 60 grupa interinkompatibilnih sorti ali i brojnu grupu (72 genotipa) samooplodnih sorti (Schuster, 2017).



Sl. 1. Uopšteni šematski prikaz ispoljavanja seksualnosti kod vrsta iz roda *Prunus*.

Vrednosti predstavljaju broj prašnika/mm dužine plodnika

(prikaz izveden prema izvoru Faust, 1989)

1.2. Stadijno razviće voćaka u funkciji reproduktivne sposobnosti

Tokom ontogenetskog razvića voćaka primetna je raznolikost tkiva i organa, koja je nastala pod dejstvom, s jedne strane stadijnih, a s dr. strane fizioloških promena. Kako navode Stanković i Jovanović (1990) ali i Lučić i sar. (1996), Šit je, izučavajući individualni život vegetativno razmnoženih voćaka otkrio niz zakonitosti u tom razvitku i podelio ga na 9 perioda uzrasta. Nakon definisanja pomenutih perioda i njihovog relativnog trajanja, Šit je odredio i odgovarajuću pomotehniku za svaki od pomenutih etapa u životu voćaka. Naime, konstatovano je da je od velikog značaja praktično poznavanje promena koje prate razvitak voćaka jer će samo u određenim trenucima razvoja primenjena pomotehnika moći da da željene rezultate, u potpunosti se prilagođavajući stanju i potrebama voćaka, ali i samom karakteru tih promena.

Iako je pitanje perioda uzrasta, kao morfo–fiziološkog procesa u razvoju habitusa tokom životnog veka, danas gotovo isključeno ili premošćeno određenim kombinacijama podloga/sorta (podloge voćaka modifikuju rast i razvoj plemke – habitusa gajenih voćaka, uglavnom tako da vrše supresiju na vegetativnu snagu rasta i uvode habitus u puno plodonošenje u najkraćem mogućem

vremenu – za jednu do dve godine) neophodno je poznavanje ovih perioda uzrasta, jer će se isti javiti u svim situacijama kada dođe do određenih fizioloških stresova ili poremećaja u rastu i razvoju u datim uslovima gajenja (posebno su otvorena pitanja narušavanja korelacije između podzemnog i nadzemnog habitusa i kompatibilnosti).

Prvi, drugi i treći period razvoja po Šitu (razvitak i razgranavanje skeletnih grana uz formiranje obrastajućih grančica i početak rađanja voćaka) traje različito kod vrsta i sorti. U ranih sorti skeletne grane višeg poretka razvijaju se za kraće vreme nego kod poznih sorti, a obrastajuće grančice na njima ranije počinju da se preobraćaju u rodne, u procesu stvaranja rodnog drveta u evoluciji. Za razliku od njih, poznije sorte obrazuju cvetne pupoljke tek posle nekoliko vegetacija. Ova pojava nastaje usled nesrazmernog iskorišćavanja organskih materija za razvoj pojedinih organa voćke (korena, pupoljaka, plodova). Rastenje je tada obrnuto proporcionalno stupanju u rodnost: rast i obnova krune u ranih voćaka nastaje ranije i brže u odnosu na one pozne. Zato je u periodu nerodnosti kod voćaka najvažnije da se pogodnom agro- i pomotehnikom obezbedi njihovo bujno rastenje i formiranje dobro razvijene krošnje, a kod bujnih kombinacija sorta-podloga cilj je da se ovaj period što više skрати.

U drugom periodu rasta i plodonošenja rodno drvo je skoncentrisano u unutrašnjosti krošnje (reproduktivna zona), a periferija krune čini vegetativnu zonu. Treći period (plodonošenje i rast) dovodi do ogolevanja unutrašnjosti krošnje i pomeranja zone obrastanja ka periferiji krošnje, čineći bujnost i rodnost uravnoteženijim, a rod kvalitetnijim. U ovom periodu naročito su bitni pravilno izvedeni pomotehnički zahvati u pravcu definisanja obima krošnje, održavanja vegetativnog porasta produžnica skeleta i usporenja procesa samoodumiranja u unutrašnjosti krune, uz adekvatnu ishranu i navodnjavanje.

Dužina *četvrtog perioda pune rodnosti* varira i traje 15-50 godina, podložno je stalnim kolebanjima i zavisi od mnogobrojnih činilaca. U ovom periodu voćka ostvaruje maksimalne prinose zahvaljujući obrastajućim prirastima koji preovlađujuće imaju karakter rodnog drveta, dok je snaga rasta značajno umanjena. Ogoljevanje unutrašnjosti krošnje je intenzivno a kvalitet roda slabi, naročito pri kraju ovog perioda. Stoga je u ovom delu života voćke intenzitet rezidbe na rod pojačan, s ciljem podmlađivanja krune. Ovo je najkorisniji period u razvitku voćaka pa treba težiti da se njegovo trajanje maksimalno produži.

Opadajuća rodnost i sušenje voćaka, tj. *etapa odumiranja* koja obuhvata preostalih 5 perioda pod uticajem je bujnosti podloge i vremena zrenja plodova: bujnije podloge i kasno vreme zrenja plodova utiču na duže trajanje ovog perioda. Proređivanje krune u smislu sušenja obrastajućih grančica nije praćeno istim pojavama na korenu, koji ostaje veoma dobro razvijen.

Snabdevanje krošnje vodom i dalje je obilno u uslovima dovoljne količine padavina, pa stoga ne čudi masovnija pojava vodopija iz osnove i srednjeg dela skeletnih grana. Njihovim razgranavanjem voćka najpre pokušava da nadoknadi delove krošnje izgubljene u procesu samoporođivanja. Ipak, proces starenja je nepovratan, pa dolazi do sušenja vrhova vodopija i sve većeg smanjenja krošnje, kao i pada prinosa, kvalitativno i kvantitativno. Pojačano đubrenje, naročito azotnim đubrivima, i jaka rezidba u smislu podmlađivanja krošnje su agro- i pomotehničke mere koje se preporučuju za ovu etapu razvoja voćaka.

Osobenost *Šitove teorije razvoja voćaka* je što je razvoj krune u početnim periodima najpre centrifugalan (od osnove ka periferiji), a u završnim centripetalan (od periferije ka osnovi). Shodno tome je i stadijna starost organa voćaka obrnuto proporcionalna njihovoj relativnoj starosti. Redosled etapa razvoja se ne može preskakati, ali se vreme trajanja pojedinih perioda može menjati pod uticajem primenjene agro- i pomotehnike, bez obzira na njihov nasledni karakter. Sa stanovišta voćarske proizvodnje interesantni su početni periodi uzrasta, da bi počev od petog perioda proces starenja postao dominantna pojava na koju je primena odgovarajućih zahvata u tehnologiji gajenja ekonomski neodrživa.

1.3. Diferencijacija, morfogeneza i organogeneza

Svi organi voćaka vode zajedničko poreklo od primarnog meristema pojedinih tačaka rasta, a pre svega apeksa vegetativnih pupoljaka. Naime, kako je pupoljak kod voćaka metamorfozirani izdanak koji formira apeks u cilju fiziološkog prilagođavanja (Mičić, 1992) svi privremeni i trajni organi voćaka nastaju dinamički deljenjem, determinacijom, diferencijacijom i rastom pojedinih ćelija apeksa (stem cell), sledećim algoritmom: ćerke ćelije → tkiva → organi.

Progresivna promena od strukturno prostog meristemskog tkiva ka kompleksnim i različitim tipovima tkiva, kao i kombinacijama tkiva u biljnim organima definiše se kao *diferencijacija*. Ova promena uključuje fiziološku konstituciju ćelija kao i njihove morfološke osobine na pojedinačnom nivou, na nivou tkiva, organa ili na nivou cele biljke. Diferencijacija se može posmatrati i kao dvostruki proces: najpre kao nastajanje razlike u odnosu na materinske ćelije u meristemu, a potom i kao nastajanje razlike u odnosu na okolne ćelije ili tkiva.

Tokom stadijnog razvitka biljke (ontogeneze) porast i diferencijacija ćelija je koordinisana tako da je rezultirajuća biljka dobila specifičnu formu, ispoljavajući tako fenomen *morfogeneze*. Termin označava pojavu razvoja forme, tj. skup pojava koje označavaju razvoj spoljašnje forme i unutrašnju organizaciju (strukturu) tj. diferencijaciju tkiva i organa. U tom smislu, pojava diferencijacije i specijalizacije ćelija, tkiva i organa čine osnovne elemente morfogeneze. Jasno

definisan redosled u nastupanju i odvijanju procesa rasta i diferencijacije u biljnim organima predstavlja *ciklus organogeneze*. Svaka vegetativna kupa prolazi kroz ovaj ciklus u određenom vremenskom periodu, shodno svojoj topografiji, pripadnosti odgovarajućoj vrsti i sorti, itd.

Sposobnost pojedinačnih ćelija da daju kompletnu biljku pri vegetativnim načinima razmnožavanja kod voćaka ukazuje na njihovu identično razvojno poreklo (*totipotentnost*). Ćelije su totipotentne jer one uslovno vode poreklo od od jedne ćelije-zigota, tj. imaju istu genetečku osnovu. Dakle, bez obzira na procese rasta i razvoja, odnosno procese uspostavljanja određene forme i funkcije sve ćelije jednog organizma imaju istu genetsku konstituciju. Iz ove konstatacije jasno proizilazi da se procesi rasta i razvoja zasnivaju na određenom aktiviranju i inaktiviranju gena, odnosno selektivnoj sintezi specifičnih proteina u ćelijama putem *i*RNK. Tačnu lokaciju tih informacija pronašla su dva nezavisna tima naučnika 1983. godine u grupi gena koji su nazvani *Homeobox geni*. Ove gene sadrže sva živa bića koja imaju višćelijsku strukturu. Na prvi pogled, moglo bi se pomisliti da su ovi geni jako složeni, a situacija je upravo suprotna. Homeobox gen je veoma kratak, ali tajna leži u tome da on ne opisuje kompletnu strukturu organizma, već samo globalni raspored organa. Za razvoj pojedinih organa zaduženi su drugi "pod-geni" koje Homeobox samo aktivira. Posebna podgrupa Homeobox gena-*Hox geni* određuju "koordinatni sistem" za izgradnju organizma, tj. raspored organa. Iz iznetog se zaključuje da složeni višćelijski organizam mora u svojim genima imati informacije o strukturi pojedinačnih tkiva i organa, a potom i o morfologiji organizma, tj. informacije o rasporedu i relacijama tih organa. To nam dalje ukazuje na jedinstven i relativno jednostavan mehanizam koji upravlja veoma složenim procesom razvoja višćelijskih organizama, i koji je podložen promenama pod dejstvom faktora spoljne sredine (npr. mutacije), što je naročito bitno za evolutivni tok.

Razvojne promene u biljkama se zasnivaju na promenljivim modelima genske represije i derepresije. Odgovarajući spoljašnji stimulus aktivira određene gene a represira (koči) druge. Kao rezultat toga, ćelije postaju sposobne da reaguju na određeni stimulus i da potom slede odgovarajuće modele razvoja. Na molekularnom nivou aktiviranje određenih gena npr. nekim hormonom izaziva sintezu specifičnih enzima koji definišu model diferencijacije ćelije. S obzirom da koncentracija određenih enzima može prethoditi morfološkim promenama u ćelijama i tkivima, može se zaključiti da je spremnost ćelije da reaguje na stimulus na određeni način ustanovljen unapred, u smislu otvorene manifestacije diferencijacije.

Razvoj sistema tkiva i organa specifičnih za biljku jasno pokazuju da pojedinačne ćelije koje čine biljku u porastu ne ispoljavaju svoju totipotentnost kada su one strukturalni deo jednog organizma. Ćelije su podvrgnute sputavanju, uzrokovanom svojom pozicijom i iskazuju samo neke svoje potencijale. Tip sputavanja (vrsta genskog koćenja) varira, što uslovljava i različite modele

razvoja u odnosu na ćelije na dr. pozicijama. Razmatranje ovakvog modela dovelo je do koncepta interakcije između susednih ćelija, pa je postavljena hipoteza kako ćelije potpomažu jedna drugu supstancama koje su vitalne za njihov rast i diferencijaciju. Ova interakcija može da se ispoljava i u smislu efekata pobuđivanja koji rezultiraju u pojavi specifičnih ćelija (istih ili različitih) jedne pored drugih, kao i međusobna inkompatibilnost između sličnih struktura ili uslova.

Razmatranja o rastu i diferencijaciji na nivou ćelija i tkiva dovela su do pitanja koja se odnose na determinaciju forme biljnih organa pa i biljke kao celine. Na nivou organogeneze kontrola se proteže iznad efekata međusobnog uticaja susednih ćelija. Pretpostavlja se da možda postoje interakcije među različitim tkivima ili organima, verovatno preko transfera hormona i hraniva. Pojava ovakve interakcije na većoj razdaljini bila bi jedan od dokaza integralnog (objedinjenog) razvoja u biljnom organizmu, ostvarenog kroz internu zavisnost njenih delova.

Sa stanovišta agro- i pomotehnike poznavanje redosleda, početka i toka morfo- i fizioloških promena u procesima rasta i razvitka nadzemnih organa voćaka, predstavljenih fenofazama i mikrofenofazama, neophodna je radi definisanja pojedinačnih tretmana ali i kompletnih protokola za biološku kontrolu ovih procesa u godišnjem ciklusu razvoja voćaka. Ciklus razvoja je podeljen na 12 etapa, univerzalnih za sve voćke, uz definisanje većeg broja podetapa koje mogu biti specifične za različite vrste voćaka (Lučić i sar., 1996):

I etapa: formiranje novih nediferenciranih vegetativnih kupa stabla i semena;

II etapa: Formiranje, diferencijacija, rast i razvoj vegetativnih organa stabla;

III etapa: Promena karaktera meristema u smislu prelaska iz vegetativnog u generativnu fazu diferencijacije;

IV etapa: Diferencijacija osovina cvetova/cvasti;

V etapa: Diferencijacija začetaka organa cveta;

VI etapa: Diferencijacija andreceuma i proces mikrosporogeneze;

VII etapa: Diferencijacija gineceuma i proces makrosporogeneze;

VIII etapa: Makrogametogeneza i citološko konstituisanje jajnog aparata, funkcionalno sposobnog za oplodnju;

IX etapa: Cvetanje i oplodnja;

X etapa Zigot i rana embriogeneza;

XI Embriogeneza (formiranje semena);

XII Formiranje fiziološki zrelog ploda i njegovo dozrevanje.

Specifičnost ovakvog sveprisutnog etapnog ciklusa razvoja apikalnih meristema je u tome što on obuhvata razvoj i vegetativnih (prve dve etape) i reproduktivnih organa (preostalih 10 etapa) kroz vidljive procese rastenja (fenofaze) i skrivene promene diferencijacije (mikrofenofaze). Ciklus se asinhrono odvija u vegetacionim kupama jednog stabla, sa različitim krajnjim ishodima tokom jednog vegetativnog perioda (od razvitka samo vegetativnih organa-II etapa, preko nekompletiranog ciklusa organogeneze do njegovog kompletiranja-XII etapa), što dovodi do različitog odnosa u broju prisutnih vegetativnih i generativnih pupoljaka u kruni voćke. Dalje, dužina trajanja ciklusa uslovljena je karakterom prirasta na kojem se razvila vegetativna kupa. Na skeletnim i poluskeletnim prirastima organogeneza može trajati više vegetacija usled stalnog obrazovanja vegetativnog pupoljka na terminalnoj poziciji ovih prirasta, što je uslovljeno i bujnošću kombinacije sorta-podloga i vrstom voćaka. Kod rodnog drveta u evoluciji ovaj ciklus je znatno kraći (2-5 godina). Takođe je primećeno da na tok organogeneze pozitivno utiče stadijna starost, ali je vidan uticaj i pozicije pupoljaka na nosačima, tipovi rodni grančica i prirasta, ugao grananja. Faust (1989) navodi kako različiti faktori bitno uslovljavaju za otpočinjanje procesa diferencijacije cvetova u pupoljcima, poput bujnosti (negativan uticaj oba ekstrema), osvetljenja (direktno pozitivan uticaj), toplote, ali i pomotehničkih mera (rezidba).

Sa stanovišta voćarske prakse u primeni odgovarajućih proizvodnih procesa i razvoju novih tehnologija gajenja naročito je važna mogućnost delovanja na tokove diferencijacije u vreme formiranja rodni pupoljaka kod voćaka. To je period od trenutka otpočinjanja programne faze diferencijacije (III etapa) koja je spolja nevidljiva, pa sve do realizacije rodnog potencijala ((XII etapa-formiranje fiziološki zrelog ploda) koji hormonski može inhibirati dalji tok diferencijacije.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA I RADNA HIPOTEZA

Organogeneza reproduktivnih organa u voćarskoj nauci u principu podrazumeva inicijaciju, formiranje i realizaciju rodnog potencijala različitih kombinacija sorta–podloga u postojećim uslovima gajenja. Kod trešnje (*Prunus avium* L.) se pretpostavlja da postoje brojne genotipske specifičnosti u formiranju generativnih pupoljaka, diferencijaciji primordija andreceuma i gineceuma, u procesima mikro i makrosporogeneze, kao i u konstituisanju embrionovih kesica, oplodnji i zametanju plodova. Ispitivanja obuhvaćena ovom tezom otvaraju brojna pitanja koje valja definisati kako bi se mogla uspostaviti održiva kontrola u projektovanju rodnog potencijala i u njegovoj realizaciji kod različitih sortnih kompozicija, visokoproduktivnih kombinacija sorta–podloga u intenzivnim i visokintenzivnim sistema gajenja.

Cilj istraživanja bio je da se detaljnim histo–citološkim i citogenetičkim proučavanjima u formiranju muškog i ženskog gametofita determinišu genotipske specifičnosti i dinamika diferencijacije ćelija i tkiva kod tri sorte trešnje (Burlat, Droганova žuta i Stela), uz precizno definisanje ovog procesa kao algoritma formiranja i realizacije njihovog rodnog potencijala. Krajnji zadatak ovako postavljenog cilja je stvaranje histo–citološke i citogenetičke osnove u funkciji razvoja novih biotehnoloških metoda kontrole plodonošenja trešnje.

U istraživanjima se pošlo od pretpostavke o strogo definisanom početku i toku diferencijacije ćelija i tkiva na nivou vrste, kao i o postojanju sortnih specifičnosti u procesima razvoja i formiranja muškog i ženskog gametofita. Sve ove pretpostavke trebalo bi materijalizovati i iskoristiti na pomotehničkom nivou za definisanje pristupa u kontroli rasta različitih kategorija prirasta kod ove ali i dr. vrsta slične fenotipske ekspresije.

3. PREGLED LITERATURE

3.1. Specifičnosti organogeneze, arhitektura stabla, modeliranje rasta trešnje u intenzivnim sistemima gajenja

Suštinu ciklusa organogeneze voćaka čini definisanje toka i redosleda odvijanja osobenih procesa koji su prisutni u rastu i diferencijaciji njihovih organa i tkiva tokom godišnjeg ciklusa razvoja. Po navodima Lučića i sar. (1996) osnovu za ciklus organogeneze viših biljaka najpre je definisala Kupermanova 1968. izvođenjem 12 etapa u ciklusu, da bi istu kod voćaka razradila Isaeva (1977), koja je, uzevši u obzir specifičnosti organogeneze višegodišnjih drvnastih biljaka, uvela kategoriju podetapa, rasčlanivši dalje pojedine etape organogeneze.

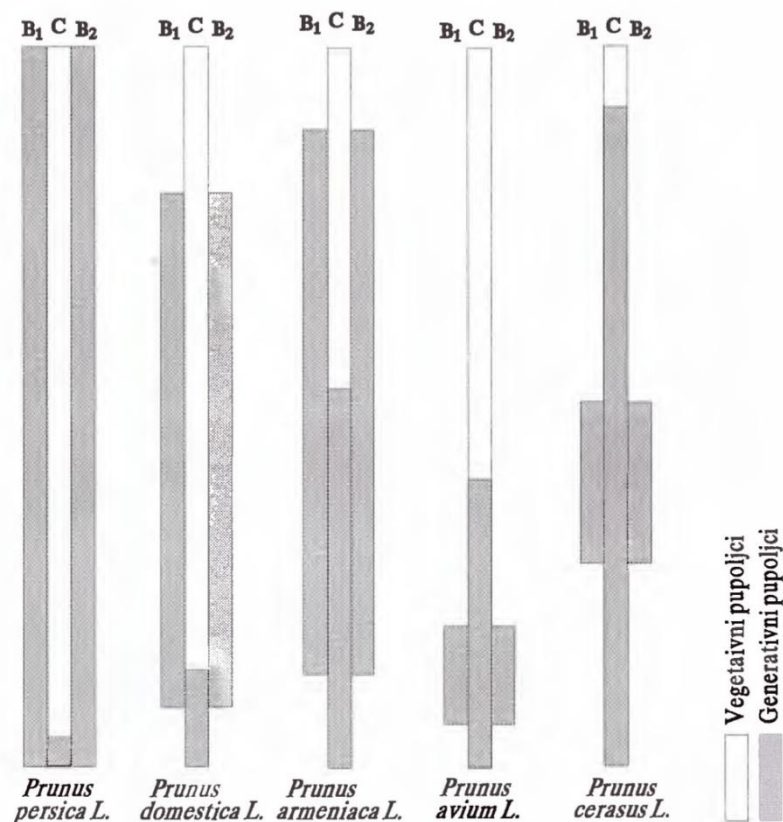
Definišući opšte aspekte proučavanja organogeneze voćaka Mičić i sar. (1996a) su konstatovali da organi voćaka, bez obzira na njihov karakter u smislu toka rasta i diferenciranosti, vode poreklo od primarne vegetativne kupe ili nediferenciranog meristema pojedinih tačaka rasta, da sve vegetacione kupe na jednom stablu nemaju sinhronizovan razvoj, a to posledično dovodi do različitog odnosa među pojedinim kategorijama pupoljaka i time do ograničenja broja pupoljaka koji će dati fiziološki zrele plodove. Autori su konstatovali da dinamika etapa i podetapa organogeneze, počevši od vegetativne tačke preko rodne grančice do plodonošenja, predstavlja sortnu specifičnost. U cilju formiranja i realizacije odgovarajućeg rodnog potencijala oni ističu naročit značaj poznavanja sl. aspekata organogeneze kod različitih kategorija prirasta: 1) Programna faza diferencijacije (III a podetapa); 2) Dinamika diferencijacije organa generativnih pupoljaka (V-VIII etapa u ciklusu organogeneze); 3) Ekofiziološki aspekti nivoa diferenciranosti generativnih pupoljaka u periodu fiziološkog i prinudnog mirovanja; 4) Step en diferenciranosti generativnih pupoljaka kao faktor razvoja organa cveta; 5) Agro- i pomotehnički aspekti zametanja i razvoja ploda; 6) Embriogeneza kao faktor razvoja ploda (XI etapa organogeneze); 7) Genotipske specifičnosti organogeneze rodnog drveta; 8) Definisanje produktivnih tipova rodnih grančica.

Proučavajući specifičnosti tipova organogeneze voćaka na osnovu zastupljenosti primordija organa diferenciranih u generativnim pupoljcima, Mičić (1992) je rodne pupoljke razvrstao u dve kategorije: čisto cvetne i mešovite. Prva kategorija pupoljaka sadrži samo začetke cvetova, bez začetaka listova i vegetacionih kupa. Funkcionalna veza između rodne grančice i cvetnih drški ostvaruje se preko skraćenog prirasta, redukovano g na izduženu bazu osovine pupoljka i zonu ljuspastih listića. Razvijenost ovog prirasta jasno je uočljiva kod trešnje i višnje, za razliku od ostalog koštičavog voća gde je on najmanje uočljiv. Iako se iz cvetnih pupoljaka razvija skraćeni prirast koji se može smatrati vegetativnim, on je rudimentiran i po plodonošenju se odbacuje s nodusa, dovodeći do njegovog ogoljavanja. Cvetni pupoljci koji se diferenciraju u pazusima listova

mladara koštičavog voća locirani su na bočnim prirastima, dok su na nodusima raspoređeni u kolateralnom rasporedu, zauzimajući periferni položaj duž celog prirasta i eventualno centralni položaj samo u određenom broju nodusa pri osnovi prirasta. Vršne pozicije na ovom istom prirastu rezervisane su isključivo za vegetativne pupoljke, dok na nodusima gde su pupoljci raspoređeni u kolateralnom rasporedu vegetativni pupoljci zauzimaju uvek i samo centralan položaj. Budući da se rast rodni grančica uvek nastavlja iz vršnih pupoljaka dok nodusi sa čisto cvetnim pupoljcima ogolevaju, sve ovo ima za posledicu da se kod ove kategorije prirasta u njihovom višegodišnjem rastu i razvitku formiraju rodni čvorovi kao kategorija starog rodnog drveta. Pomenute pravilnosti u organogenezi čisto cvetnih pupoljaka prisutne su kod gajenih vrsta voćaka iz roda *Prunus*. Grupa voćaka sa čisto cvetnim pupoljcima čini istovremeno i grupu voćaka kod kojih u vegetaciji najpre nastupa cvetanje pa onda listanje, upravo zahvaljujući rudimentiranom plodonosnom mladaru. Ovo se smatra posledicom evolutivnog razvoja roda *Prunus*.

Definišući relativne pozicije generativnih pupoljaka na prirastima kod koštičavog voća Mićić i Đurić (1995a) su zaključili kako je topografija ovih tačaka rasta ključna i određujuća za tok diferencijacije vegetativnih kupa na nodusima mladara u analiziranih vrsta voćaka iz roda *Prunus*, kao i da je ona definisana genotipom vrste. Ciklus organogeneze teče u dvogodišnjem periodu: tokom prve vegetacije u svim pazušnim pupoljcima duž mladog prirasta kod analiziranih vrsta i sorti voćaka diferencira se samo jedna vegetativna kupa. Daljom diferencijacijom primarne vegetativne kupe zimskog pupoljka u proleće sledeće godine formiraju se primordije listova-preteče primarnih pokrovnih listića, u čijem pazuhu zaostaju meristemi koji su osnova formiranja kolateralnih pupoljaka. Tokom dalje organogeneze centralne i bočnih vegetativnih kupa, primarni pokrovni listići postaju zajednički zaštitni listići koji prekrivaju sve tri vegetacione kupe, dok centralna vegetativna kupa diferencira sopstvene pokrovne listiće u procesu koji je intenzivniji od završetka rasta primarnih pokrovnih listića. Dalji tok diferencijacije vegetativnih kupa nodusa je vrlo različit i može teći u različitim pravcima: u pravcu diferenciranja vegetativnih ili generativnih pupoljaka, ili se završava ranim atrofiranjem vegetativnih pupoljaka, tj. atrofijom tokom diferencijacije generativnih pupoljaka. Takođe je primećena zakonitost da bočne vegetacione kupe nodusa ili idu u pravcu atrofije ili u pravcu diferencijacije generativnih pupoljaka (nikada ne zadržavaju vegetativni karakter), za razliku od centralne vegetativne kupe koja ili zadržava vegetativni karakter ili se diferencira u generativne pupoljke u osnovi mladara u roda *Prunus*. Predstavljeni ciklus organogeneze koštičavog voća u ovom radu jasno pokazuje kako tokom samo jednog ciklusa u kruni ovih voćaka teku tri paralelna procesa: 1) formiranje novih prirasta; 2) dalja diferencijacija zimskih pupoljaka u pravcu vegetativnog/generativnog prirasta; 3) zimski pupoljci sa već promenjenim (generativnim) karakterom meristema kreću u završnu fazu diferencijacije

(mikro i makrosporogenezu). Činjenica da se na nodusima mladara, bez obzira koja će kategorija prirasta od njega nastati, formiraju po tri vegetativne kupe, predstavlja značajan biološki potencijal koji se može iskoristiti u definisanju pomotehničkih zahvata u visokointenzivnim tehnologijama gajenja koštičavog voća za dobijanje odgovarajuće strukture pupoljaka odnosno prirasta. Autori su na kraju zaključili kako granica između vegetativne i generativne zone koju formiraju centralne vegetativne kupe jeste jasno uočljiva na rodnim grančicama i ona zavisi od više faktora, ali pre svega od osobenosti vrste a potom i sorte, kako su to autori i grafički prikazali (Sl. 2.). Iz prikazanog se generalno zaključuje kako vrste roda *Prunus* raspolazu izuzetnim rodnim potencijalom, s obzirom na prisutne cvetne pupoljke na bočnim pozicijama po celoj dužini mešovitih grančica (*Prunus persica*), dok vršni i bazalni delovi vitih grančica nemaju diferencirane bočne pozicije (ostale ispitivane vrste roda *Prunus*); centralno pozicionirani pupoljci pri osnovi pomenutih rodnih grančica su redovno rodni, a pri vrhu prirasta–vegetativni.



Sl. 2. Šematski prikaz dominantne zone formiranja normalno diferenciranih vegetativnih i generativnih pupoljaka u kolateralnom rasporedu na nodusima duž dugih (vitih) rodnih grančica kod različitih voćaka roda *Prunus* (izvor: Mićić i Đurić, 1995a).

U preglednom radu vezanom za analizu arhitekture stabala prisutnih kod voćaka u cilju njenog modeliranja, Costes et al. (2006) navode kako je konstrukciona organizacija (arhitektura) stabala nastala aktivnošću barem dva primarna meristema (jednog od nadzemnog dela i jednog od

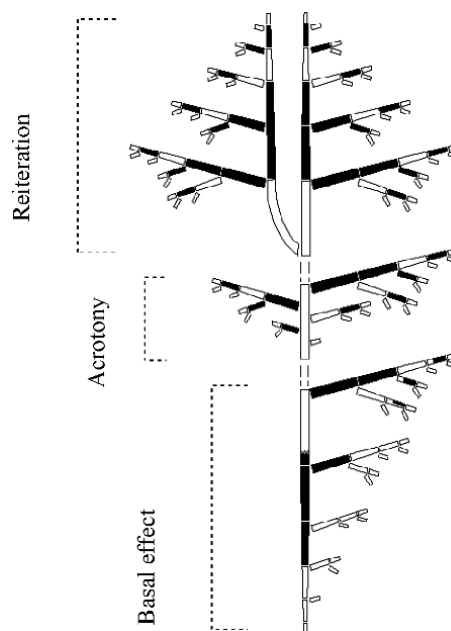
korenovog sistema), ili u manjoj meri putem aktivnosti sekundarnih meristema koji su odgovorni za uvećavanje prečnika osovina stabala. Klasifikacija nadzemnog dela stabla ide u 4 glavne kategorije: jednoosovinska stabla (nastala od pojedinačnog nadzemnog meristema) ili nekoliko meristema (višeosovinska stabla). Ova poslednja se deli na 3 podkategorije na osnovu stanja diferenciranosti osovina stvorenih od strane meristema: 1) svi meristemi imaju podjednaku aktivnost i stvaraju jednake nediferencirane osovine; 2) različiti meristemi imaju različite potencijale i stvaraju različite tipove osovina (tj. diferencirane osovine); 3) dati meristem menja svoju aktivnost vremenom i stvara mešanu osovinu, tj. osovinu čiji bazalni i vršni delovi imaju različitu organizaciju.

Unutar ovih glavnih kategorija, finije razlike se uočavaju kod podkategorija razmatranih kao 'arhitektonski modeli'. Njihove definicije zasnovane su na konceptu 'diferencijacije osovina' koji kombinuje 5 važnih morfoloških kriterijuma koji su u vezi sa aktivnošću meristema: (1) *Pravac rasta*, povezan sa filotaksijom omogućuje razlikovanje ortotropskih (osovina je snažnog porasta sa radijalnom simetrijom) i plagiotropskih osovina (osovina je manje-više horizontalna, sa dorziventralnom simetrijom); (2) *Ritam rasta*, koji može biti kontinuiran ili ritmičan; (3) *Režim grananja* (monopodijalni model: vršni meristem dominira svojim prirastom u odnosu na bočno potčinjene meristeme i njihove priraste; simpodijalni: odumiranje vršnog meristema dovodi do bočnih razgranavanja, *pozicija grananja*: akrotonično nasuprot mezo- i bazitoničnom i njene *dinamike*: momentalni-sileptični ili odloženi-proleptični); (4) *Seksualna diferencijacija meristema* i (5) *Polimorfizam osovina* koji omogućava razlikovanje između kratkih (branhblasti), srednjih (mezoblasti), i dugih (auksiblasti) prirasta.

Predviđena klasifikacija, sastavljena od 23 modela, obezbeđuje okvir za analizu biljne arhitekture i vodi ka osmatranjima razvojne dinamike stabala, kao i identifikacije fenomena koji su nepromenljivi u odnosu na ekološke uslove. Ovakav pristup pokazao je da je moguće obračunati promenljivost viših biljaka putem definisanja ograničenog broja razvojnih modela, definisanih na nivou celog stabla i na nivou osovine.

Paralelno su i drugi koncepti bili izvedeni iz analize biljaka. Jedan od njih je mnogo detaljniji u analizi, a proizašao je iz ponavljajuće prirode konstrukcije drveta, koja je opet proizašla iz ponavljanja sličnih organa i kompleta organa. Naročita pažnja bila je usmerena na ponavljanje *metamera/fitomera* koje definišemo kao bazične elemente biljne konstrukcije nastale vršnom aktivnošću prirasta. Oni se sastoje od članka, njegovog pazušnog prirasta, listova i pazušnih pupoljaka, kao i internodija razvijenih ispod njih. Ipak, ponavljajuće celine nisu baš identične i njihov razvoj se dokazano menja sa njihovom pozicijom unutar strukture drveta tokom razvoja biljke. I pored toga što su promene u pravcu diferencijacije pupoljka i stanja celine specifične za

svaku vrstu i vode ka diferencijaciji osovina (ortotropni nasuprot plagiotropnim osovinama; kratke nasuprot dugim osovinama, itd.), generalna pravila uspostavljena su za sl. RAUHOV MODEL ARHITEKTURE STABLA (Sl. 3.): (1) Povećanje prirasta u dužinu i u razvoju pazušnih prirasta tokom početnog perioda razvoja (tzv. 'uspostavljajući porast'); (2) Period stabilnosti tokom kojeg se zapažaju specifični gradijenti razgranavanja (npr. poput akrotonije); (3) Progresivno smanjenje prirasta u dužinu i u pogledu razvoja pazušnih prirasta, što vodi ka finalnom razvojnem stadijumu ili starosti.



Sl.3. Shematski prikaz Rauhovog modela arhitekture stabla (izvor: Costes et al., 2006)

Po navodima istih autora (Costes et al., 2006) arhitektonska analiza je problematična za voćke stablašice jer sistemi gajenja generalno menjaju arhitekturu stabla, i to često putem rezidbe. Rezovi promovišu lokalni naknadni porast, koji međudejstvuje sa prirodnim rastom i modelima razgranavanja. Stoga je primerenije analizirati arhitektonski razvoj na stablima odgajenim sa minimalnom tehnologijom gajenja, a naročito bez jake rezidbe, tokom nekoliko godina.

Navodeći dalje primere arhitektonske analize stabala pomenuti autori izdvajaju poziciju cveta u kombinaciji sa ponašanjem vršnog meristema kao ključnu u definisanju različite arhitekture stabala kod koštičavog voća: kod stabala trešnje i breskve, vršni meristem ostaje živ vodeći ka sistemu monopodijalnog grananja, dok kod stabala kajsije (ili šljive) vršni meristem obično odumire nakon svakog od perioda porasta, što vodi ka simpodijalnom grananju. Stoga trešnja i breskva korespondiraju sa Rauhovim modelom. Naročito trešnja korespondira sa definicijom Rauhovog modela vrlo striktno, s obzirom da se sastoji od jasno definisanih kratkih i dugih prirasta i ispoljava izražajnu hijerarhijsku strukturu. Štaviše, stepen akrotonije je naročito oštar, vodeći do dugih prirasta lociranih isključivo na vršnim nodusima jednogodišnjih prirasta i stoga ka ritmičkoj

distribuciji dugih grančica duž glavne osovine. Suprotno tome, kod breskve je primećena više poliarhična organizacija koja dovodi do razvoja bazitoničnih, neprestano ponavljajućih kompleksa.

Osvrćući se na unutarvrstne varijabilnosti arhitekture stabla, pomenuti autori (Costes et al., 2006) navode kako razlike koje postoje među sortama u porastu, razgranavanju i lokaciji cvetova takođe moraju biti predmet ispitivanja kako bi se dobio optimalizovani sistem gajenja, adaptiran na različito ponašanje primećeno u okviru vrste. Različiti kriterijumi su korišćeni za kvantitativno klasifikovanje sorti unutar različitih vrsta. Pionirska ispitivanja uradio je *Bernghard (1961)* koji je prvi pokušao da tipizira stabla jabuke na osnovu sveukupnog modela rasta stabla, tj. pravca rasta ramenih grana od uspravnog ka visećem, i njihovih tipova plodonošenja. *Lespinasse sa saradnicima* je kasnije uključio i 3. parametar: poziciju ramenih grana duž debla, od baze-ka akrotoničnom tipu.

U revijalnom prikazu modela razgranavanja u familiji *Rosaceae* Costes et al. (2014) su pokazali do kog nivoa je nauka trenutno dosegla, kada se radi o modeliranju arhitekture stabala kod pojedinih vrsta voćaka. Autori navode kako je razgranavanje kod umerenokontinentalnih biljaka usko povezano sa predodređenošću pupoljaka ka generativnom tj. vegetativnom pravcu diferencijacije, kao i njihovom pozicijom duž letorasta, definišući modele koji se razlikuju među vrstama i koji su njihova konzervativna osobina. Autori su takođe izveli i zaključak kako se ona ipak menja sa promenom dužine roditeljskog prirasta tokom ontogeneze voćke.

Kod umerenokontinentalnih vrsta osovine su klasifikovane u zavisnosti od prisustva tj. odsustva novoformiranih organa (organa koji nisu bili deo pupoljka u vreme njegovog embrionalnog stadijuma ali su se formirali tokom morfogeneze i perioda izduživanja prirasta). Tipično, kratke osovine se sastoje od tzv. *preformiranih organa* (metameri ili organi budućeg rastućeg prirasta koji su prisutni u embrionalnom stadijumu u pupoljku pre izduživanja prirasta), dok su samo dugački prirasti sačinjeni od preformiranih organa za kojima slede tzv. *neoformni organi* (novoformirani organi koji nisu bili prisutni u pupoljku tokom njegovog embrionalnog stadijuma već se naknadno formiraju tokom morfogeneze i izduživanja prirasta). Još jedna kategorija su tzv. *epikormične osovine* (prirasti izrasli iz prethodno mirujućeg pupoljka na deblu ili grani koji se razvijaju iz biljnog tkiva koje nije deo pupoljka pošto se ono razvija naknadno, tokom morfogeneze i izduživanja prirasta) za koje se prihvata mišljenje da su potpuno neoformni a obrazuju se u stresnim uslovima ili nakon oštre rezidbe. Na nivou cele biljke, arhitektura i razgranavanje rezultiraju iz odnosa između različitih pupoljaka i meristemskih tkiva koji ih sačinjavaju. Ovi odnosi diktiraju kako će se svaki pupoljak razvijati, rasti ili prestati rasti, odnosno da li će korespondirajući meristem održati svoju organogenetsku aktivnost (tj. biti sposoban da

proizvodi nove organe) ili će se pupoljak diferencirati u specifičan organ poput trna, cveta ili cvasti. Biljke ispoljavaju ograničen broj mogućih konfiguracija razgranavanja, shodno nekom od 23 arhitektonska modela koja su definisana. Svaki od njih korespondira sa određenom kombinacijom četiri glavna kriterijuma koji se odnose na privremeno i toploško pozicioniranje cvetova i vegetativnih prirasta. Jedan kriterijum odnosi se na razgranavanje koje može biti trenutno i odloženo, monopodijalno ili simpodijalno (prisustvo i odsustvo apikalne dominacije, po redu), bazi-, mezo- i akrotonično, što je vezano za distribuciju i poziciju novih prirasta (vršno, srednje i bazalno razgranavanje, po redu). Dalje, uzastopno razgranavanje se razlikuje od neprestanog ponavljanja, koje se dešava kada bočni prirast ima upoređujuću ili veću dužinu od svog roditeljskog prirasta, i delimično ili potpuno ponavlja roditeljski sistem razgranavanja.

Po navodima istih autora, tipovi razgranavanja takođe se mogu modelirati putem promene agroekoloških uslova. Modeli zavise od toga da li se bočni prirasti razvijaju odmah ili nakon perioda mirovanja, da li je cvetanje prisutno na pazušnim ili vršnim pozicijama, u pojedinačnim ili mešovitim pupoljcima. Tipična organizacija razgranavanja i cvetanja je modulirana shodno unutrašnjim faktorima poput ontogenetskog stadijuma roditeljskog prirasta ili genotipa. Ontogeneza biljne strukture, naime, podrazumeva progresivno smanjenje godišnjih stopa prirasta sa starenjem biljke, u smislu smanjenja i u pogledu dužine i u pogledu frekvencije razgranavanja, kao što unutar vrste postoje značajne razlike među sortama u pogledu prirasta-broja listova/prirastu u funkciji starosti drveta, razgranavanja i/ili geometrije celog stabla-uspravan ili polegnut (kao kod breskve). Dalje, model razgranavanja ispoljava plastičnost u zavisnosti od tehnologije gajenja i vremenskih prilika (poput svojstva svakog genotipa da se adaptira na rezidbu i određeni uzgojni oblik, deficita vlage koji različito deluje na priraste: kod epikormičnih prirasta srednja zona je najčešće preskočena, iako ne mora da dođe do smanjenja broja razvijenih nodusa na prirastu usled deficita vode, itd.). Iako ne postoji varijabilnost u uglu filotaksije ($2/5$ kod svih vrsta) postoji veliko variranje u modelima razgranavanja kao posledica položaja pupoljaka i konfiguracije predodređenosti razvoja pupoljaka. Takođe, vreme i lokacija indukcije diferenciranja začetaka cvetova u pupoljcima razlikuje se među vrstama, što upućuje na vezu između održavanja apiklanih meristema, određenosti indukcije diferencijacije i rezultirajućih morfotipova. Održanje meristema ipak je ključno za višegodišnje biljke pa bi strategija cvetanja mogla da se objasni preko razlike u regulaciji meristemskog identiteta, razvojnih stadijuma (juvenilnog nasuprot stadijuma zrelosti) i determinisanosti.

Autori Costes et al. (2014) su na kraju definisali tzv. morfotipove kao rezultat sinergije održavanja apikalnih meristema, determinisanosti i lociranosti cvetnih elemenata na nivou prirasta. Većina morfotipova poreklom iz šumskih populacija, poput trešnje, kombinuju jaku akrotoniju (i na

nivou stabla, i na nivou grane) sa sistemskim razdvajanjem cvetnih od vegetativnih meristema. Lokacija cvetnih pupoljaka u preformiranim zonama, daleko od vršnih meristema prirasta, dopušta završetak juvenilnog perioda bez promene vegetativnog kapaciteta porasta vršnog meristema. Putem održavanja dugog organogenetskog perioda vršnog (apikalnog) meristema kod vertikalnih osovina, a naročito kod glavne osovine, sačinjena je konstrukcija visokih stabala, koja nudi mogućnost da konstrukcija može da se izборi za svetlost sa svojim susedima u šumskoj biocenozi. Suprotno tome, što su cvetni meristemi bliži vrhu, to je vršni meristem determinisaniji. Među vrstama roda *Prunus*, koji svi obrazuju cvetne i vegetativne pupoljke u kombinaciji duž neoformiranih delova prirasta, badem ima najuspravniji i akrotonični (vršno razgranavajući) oblik, u poređenju sa breskvom (više bazitonični oblik) i kajsijom (simpodijalno razgranavanje), kod koje odumiranje vršnog meristema dovodi do vršnog razgranavanja i ispoljavanja manje veličine stabla. Periodično odumiranje vršnih meristema prirasta bez cvetne diferencijacije, što je primećeno kod kajsije, jeste jedan interesantan slučaj koji upućuje na deficit u održavanju prisustva vršnog meristema. Ono se može odnositi na njegovu osetljivost na klimatske uslove. Takođe, zaustavljanje i okončanje porasta često može dopustiti prilagođeni rast koji je adaptiraniji na sušnije ekosisteme u kojima ova vrsta raste.

Autori zaključuju da je predodređenost pupoljaka ka tipu diferencijacije definisana tokom vegetacije, iako oni rastu nakon zimskog perioda mirovanja, narednog proleća. Ovo je tipično za višegodišnje strukture, pored vidnog izuzeća od sileptičkog razgranavanja (obrazovanje bočnih prirasta u istoj vegetaciji kad i lateralni pupoljci iz kojih su nastali). U populaciji pupoljaka razvijenih tokom vegetacije samo deo se diferencira u cvetne pupoljke, na određenim pozicijama. Ove pozicije takođe se mogu sagledati kao posebni vremenski koraci tokom godišnjeg ciklusa razvoja prirasta. U slučaju stabla trešnje, pobuđivanje u pravcu generativne diferencijacije dešava se samo u pupoljcima lociranim u preformiranim delovima prirasta, dakle u malom broju meristema formiranih rano tokom vegetacije. Ovo možda proizilazi iz privremene ekspresije ključnih gena, kako je to prethodno prikazano kod topole, kod koje vrh FT1 ekspresije (ispoljavanja) zimi inicira prelazak vegetativnog meristema ka reproduktivnom statusu, dok su pupoljci stvoreni pre i posle FT1 ekspresije-vegetativni. Kod dr. vrsta roda *Prunus*, uključujući tu badem i breskvu, diferencijacija u generativnom pravcu se takođe dešava i u preformiranim organima, ali je povezana sa pazušnim meristemima koji se svi formiraju tokom vegetacije i to duž neoformiranih delova roditeljskog prirasta. Ovo upućuje na to da se uslovi za generativni pravac pobuđivanja moraju održavati (negovati) tokom vegetacije. Štaviše, povratak zona razgranavanja povezanih sa brojem cvetova, kako je to otkriveno kod kajsije ili badema, upućuje na to da se pobuđivanje u generativnom pravcu dešava u različitim talasima intenziteta, vodeći ka

promenljivom (povećavajućem ili opadajućem) broju cvetova, što je u vezi sa pazušnim meristemima. Ove oscilacije mogu nastati kao posledica promenljivih uslova spoljne sredine ili unutrašnjih uslova rasta, uključujući tu i dostupnost resursa ili molekularnu kontrolu. Iako su ispitivanja neophodna kako bi se potvrdilo učešće navedenih faktora, sumnja se da bi u takvim uslovima konfiguracije tkiva-regulacija predodređenosti delova tkiva ka određenom tipu diferencijacije na ćelijskom nivou morala biti vrlo precizna u vremenu i prostoru.

Na petom Internacionalnom Simpozijumu o trešnji u Turskoj (Bursa, 2005) grupa francuskih autora (Lauri i Claverie, 2008) iz nacionalne naučne grupe koja se bavi proučavanjem arhitekture i funkcionalnosti vrsta voćaka izložila je objedinjena saznanja o arhitekturi stabla, fiziologiji i tehnologiji gajenje trešnje. Po njima, sa stanovišta arhitekture stabla, trešnja poseduje dve bitne osobine: 1) ima uspravne ramene grane na kojima preformirani kratki i dugi prirasti nose cvetove na bočnim pozicijama, koje ogoljevaju nakon plodonošenja (tipičan arhitektonski model Rauha) i 2) odlikuje se snažnim dimorfizmom između kratkih prirasta (sastoje se u proseku od 10 preoblikovanih nodusa zatvorenih u zimskim pupoljcima) i dugih prirasta (sastavljenih od preoblikovanih delova praćenih novoformiranim delovima), sa izražajnom akrotonijom. Naime, duži prirasti se razvijaju na vršnim pozicijama, neposredno ispod prekinutog prošlogodišnjeg rasta, uz postojanje tipičnog stepena akrotoničnosti na prirastima razvijenim duž njihovih nosača. Zbog starošću izazvanog smanjenja godišnjeg porasta dugih prirasta, ovaj dimorfizam je manje izražajan na starijim stablima u poređenju sa istim kod mladih stabala. Kao posledicu iznetog imamo da se udeo prinosa koje nosi kratko rodno drvo povećava sa starošću stabla. Kao i kod drugih voćaka, svi zahvati u rezidbi i oblikovanju krune su multifunkcionalni, tj. imaju različite efekte na arhitekturu stabla (distribuciju bočnih prirasta u biljnom sklopu, njihovu demografiju, broj i raspored, itd.) i usvajanje svetlosti, kao i njenu distribuciju unutar špalira. Sve ovo naknadno utiče na kvalitet ploda. Isti sistem gajenja može imati objedinjujuće i/ili antagonističke efekte na arhitekturu stabla i distribuciju svetlosti u kruni. Stoga kritični koraci u konceptu preciznog sistema gajenja radi održivog prinosa i kvaliteta ploda jesu kako što bolje sagledati posledice tehnika korišćenih za oblikovanje krune i razviti metode koje će anticipirati razgranavanje i cvetanje u kruni i u narednoj godini, a ne samo primena metoda koje koriguju trenutne probleme. Iako je, kao i kod dr. voćaka, podloga najefikasnija i postojana mera redukovanja veličine stabla i unapređenja ranog plodonošenja na osnovu povećanja učešća reproduktivnih struktura na račun vegetativnog porasta, česte nedoslednosti u ispoljavanju efekata shodno sorti i agroekološkim uslovima stvaraju potrebu za daljim istraživanjima. Rano stupanje krune na rod može nepovoljno uticati, a to je obično povezano sa pojavom prerodavanja stabala u ranoj mladosti, podstičući niži prinos i kvalitet ploda u sprezi sa smanjenim prirastima u kruni. Iako je frekvencija razgranavanja i opšti izgled krune sortna odlika, podloga često utiče na ugao razgranavanja i stoga treba biti razmotrena u tehnici

oblikovanja krune. Kao i kod većine dr. umerenokontinentalnih voćaka, diferencijacija rodni pupoljaka u pazuhu listova kod trešnje se dešava kasno u proleće i tokom leta, u godini koja prethodi cvetanju i plodonošenju. Ispitivanja su konstatovala generalni trend u stepenu akrotoničnosti između majskih kitica iste starosti, kao i povećanje prečnika i broja plodova/kitici duž nosača rodnog drveta, idući od sredine ka vrhu. Ove tendencije se razvijaju pod uticajem sorte, podloge i datog sistema gajenja, tj. shodno orijentaciji grana. Produkcija kitica, zapaženo je, opada sa starošću nosača, bez obzira na uslove osvetljenosti i dugovečnost stabla. Pretpostavlja se da je životni vek kitica multifaktorijalan i zavisi od metoda rezidbe (u smislu regulisanja konkurencije za asimilatima između njih i prirasta), uslova osvetljenosti, orijentacije grana ili sorte. Autori takođe ističu značaj ekoloških uslova na razvoj kratkog rodnog drveta, navodeći zaključke drugih autora (*Oukabli i Mahhou, 1997.*) kako se proporcionalna zastupljenost rodni kitica na drvetu različite starosti može posmatrati i kao indeks sortne adaptacije na umerenu klimu sa nedovoljnim brojem chilling-jedinica.

Autori Lauri i Claverie (2008) navode još neke specifične osobine trešnje kao vrste. Naime, kod nje se lisna masa razvija uglavnom posle cvetanja i tokom razvoja ploda. Ovaj proces razvića je kraći u odnosu na druge voćke (manje od 90 dana, u odnosu npr. na jabuku, 150 dana). Oba ova fenomena sugerišu o kritičnoj ulozi rezervi ugljenih hidrata za održivi rani vegetativni porast i plodonošenje. Iako fotosinteza plodova značajno doprinosi ranom balansu ugljenih hidrata plodova, ipak brz razvoj fotosintetički nadležni listova, koji ostvaruju vrh svoje fiziološke aktivnosti neposredno pre punog razvoja individualni listova, vodi ka autotrofiji špalira ubrzo nakon pokretanja pupoljaka. Varijabilnost u lisnoj masi uslovljena je dejstvom nekoliko faktora: svetlosnog okruženja u zavisnosti od položaja unutar špalira, zatim modifikacije odnosa izvor-potrošač (putem uklanjanja lisne mase), i starosti listova. Neto fotosinteza bazalnog lišća na dugim prirastima trešnje nije značajno različita od istog na lišću slične starosti na kiticama u bilo kom periodu razvoja prirasta. Ipak, autori navode prethodne rezultate *Lauria (1992)*, po kome je verovatno da relativan odnos listova i osovina lisni prirasta jeste snažan oslonac u vremenski programiranoj distribuciji izvoza ukupni produkata fotosinteze ka ostatku stabla, a naročito ka plodovima. Biljni sklop stabla trešnje čine tri vrste prirasta: dugi vršni prirasti, kratko rodno drvo u nastajanju na 1-godišnjim nosačima i rodne kitice na dvo- i više godišnjim nosačima. Lišće kitica razvija se potpuno tokom 3 nedelje nakon pokretanja pupoljaka i većinom doprinosi razvoju plodova na tom istom rodnom drvetu. Plod je prioritetan potrošač asimilativa, naročito tokom I i III faze svog razvoja, pa pored lisne mase kitica i okružujuća lisna masa (lišće okolni nerodni kitica i dugi mladara) učestvuje u obezbeđenju asimilativa za njihov razvoj.

Autori Lauri i Claverie (2008) dalje primenjuju heuristički koncept (primenu znanja) na oblikovanje krune trešnje preko više principa. Princip *'Upravljanja oblikom krune nasuprot upravljanju rodnim granama'* navodi da i kod trešnje kao i kod ostalih voćaka produktivnost stabala zavisi od vremenskih i zemljišnih uslova, izbora sadnog materijala i sistema gajenja. Svi ovi faktori pojedinačno su snažno nezavisni, dok parametri visina stabla i gustina sadnje jesu zavisni od bujnosti komponenata sorta–podloga. Neke osobine vezane za oblikovanje krune u gustim nasuprot retkim zasadima (300–500 *stabala/ha*) se bitno razlikuju, jer kod ovih poslednjih potreban je jak skelet za svako stablo, za razliku od gustih zasada (preko 1000 *stabala/ha*) gde skelet biva redukovan na minimum. Ipak, u oba slučaja rodni špalir treba da je sastavljen od rodnih grana idealno ukomponovanih u različite populacije prirasta/listova. Mnogi sistemi gajenja razvijeni su u različitim trešnjarskim područjima širom sveta s ciljem poboljšanja prinosa i kvaliteta ploda a putem optimalizovanog usvajanja svetlosti i njene distribucije unutar špalira. Činjenica da svi ovi sistemi egzistiraju dokaz je da niti jedan od njih nije zadovoljio cilj a to je visok i standardno dobar kvalitet plodova u svim okolnostima. Kod gustih zasada heuristički je još važnije da se pažnja fokusira na odgovarajuću pomotehniku na rodnom drvetu na osnovu suštinskog znanja iz fiziologije i poznavanja arhitekture stabla, zatim na sistem gajenja tj. sveukupni oblik stabla sam po sebi kao strukturni okvir za rodne grančice. Princip *'Vegetativni porast i modeli plodonošenja, uz upotrebu rezidbe i sistema gajenja'* uključuje dva evolutivna koraka, arhitektonske komponente koji određuju smer plodonošenja i njihovo oblikovanje pod dejstvom spoljašnjih faktora (podloge, rezidbe, sistema oblikovanja krune). Bitni faktori koji primarno određuju model plodonošenja sorte su frekvencija akrotoničnog grananja, proporcija članaka sa pazušnim cvastima pri osnovi dugih mladara koji ostavljaju ogoljeno drvo na dvogodišnjim i starijim delovima grane, distribucija cvetova i plodova na majskim kiticama i diferencijacija roda na starijim kiticama. Ovi faktori su pod uticajem podloge ali i sistema gajenja i procedura rezidbe (u podeli na zimsku nasuprot letnje, rezova krune u jednoj ravni nasuprot rezova proređivanja, itd.). Kombinacija ovih procedura efikasno i precizno upravlja oblikom stabla i plodonošenjem i adaptirana je za poseban biljni materijal. Tako npr. poznato je da zimski rezovi krune u jednoj ravni stimulišu bujnost i mogu se koristiti za odlaganje plodonošenja kod ranostasnih i produktivnih kombinacija sorta–podloga, dok savijanje grana ima prednost kod bujnih, kasnostasnih sorti. Princip *'Arhitekture stabla i optimalizacije plodonošenja'* zasniva se na hijerarhičnosti stabla trešnje, tj. na dominaciji debela u odnosu na bočne priraste, barem u ranim fazama razvoja krune. Sa starosnim smanjenjem dužine dugih prirasta postepeno se razvija poliarhija (relativna ujednačenost svih prirasta bez obzira na poredak grana). U kasnijim fazama razvoja biljni sklop se formira od prirasta srednje dužine sa rodnim kiticama na svim novoformiranim nodusima, uz svega par akrotoničnih bočnih dugih prirasta. Neke sorte tipično pripadaju hijerarhijskom tipu arhitekture stabla (Fercer, Durone 3).

Biljni sklop tzv. hijerarhičnih stabala ima rodne kitice u udaljenoj vršnoj 1/3 prirasta sa progresivnom kolonizacijom nižih članaka na starijem drvetu. Kod dr. sorti (Van) prisutan je polijarhični tip arhitekture. Prelazak od hijerarhije ka poliarhiji za datu sortu dešava se mnogo brže na kržljivim u odnosu na bujne podloge. Kao posledica, poliarhijski nivo i povezujući štetni efekti preguste krune pre se postižu na kržljivim stablima. Odgovor na pitanja koje je najkvalitetnije rodno drvo i kako ga ugraditi u samu krunu autori su dali tvrdnjom kako je cvetanje i plodonošenje najkvalitetnije pri osnovi dugih letorasta. Ipak rod dobijen na ovakvim pozicijama čini mali deo od ukupnog prinosa u kruni, naročito kod hijerarhijskih stabala. Stoga prioritet rezidbe treba da bude održavanje roda na ovim prirastima u što većem procentu. U kontekstu gustih zasada sa progresivnim smanjivanjem dužine mladih prirasta tokom godina eksploatacije, citirano je više dr. autora koji navode kako bi dobar kompromis bio imati redovan prirast dužine 20–30 cm svake godine, sa rodnom na dugim letorastima i u poznijim godinama života zasada, i dobro razvijene kitice na starijem drvetu. Autori Lauri i Claverie (2008) konstatuju kako je poliarhijsko stablo verovatno dobar sistem za ugradnju najkvalitetnijeg rodnog drveta u krunu stabla, iako i tu ima razlike. Ekstreman primer bio bi uzgojni oblik španski grm kod kojeg se bujnost slama njegovim deljenjem u brojne podjednake segmente prirasta preko rezova u jednoj ili više ravni. Ipak ovaj veštački sistem zahteva mnogo radne snage sa visokim nivoom veštine za izvođenje rezidbe. S druge strane, sistemi koji iskorišćavaju prirodnu arhitekturu stabla i distribuciju različitih populacija prirasta i listova unutar špalira (poput Solaxe sistema) bili bi manje zahtevni po pitanju radne snage i stoga imaju prednost sa ekonomske tačke gledišta, što je u ogledima i dokazano. Rezultati oglada, kao i praktična zapažanja poljoprivrednih savetodavnih službi na terenu, bez obzira na primenjene sisteme gajenja (vaza, vertikalna kordunica i Solaxe) istakla su sl. bitne ciljeve: 1) Povećati prozračnost krune putem uklanjanja grana i prorede kitica u njihovom bazalnom delu; 2) Pravilno raspodeliti vegetativni prirast, naročito u zonama plodonošenja tj. pri osnovi dugih prirasta i kod dobro razvijenih kitica; 3) Neophodnost upravljanja zametnutim rodnom i gustinom grančica putem rezova proređivanja bočnih prirasta u akrotoničnom prstenu kao i kitica (rodnog drveta u nastajanju ili starijeg rodnog drveta), u zonama duž nosača gde su pregusti i ispod prirasta, u slučaju da je savijen. Sve ovo obezbeđuje korektnu svetlosnu sredinu i promoviše plodonošenje kao i održivost rodnosti na preostalim kiticama. Proređivanje rodničkih pupoljaka može se uzeti kao dopunska mera za podešavanje prinosa, uz minimiziranje neželjenog bujnog porasta usled neadekvatne rezidbe.

Autori Lauri i Claverie (2008) na kraju zaključuju kako, sa stanovišta fiziologije, strategija tzv. 'preciznog razgranavanja' u procesu proređivanja kitica i dugih prirasta verovatno menja demografiju prirasta (povećavajući dužinu i broj listova na kiticama, kao i raspodelu asimilata), u

poređenju sa više izraženom hijerarhijskom arhitekturom stabla. Odnos izvor-potrošač u pogledu asimilativa zavisi ne samo od usisne moći potrošača već i od snabdevenosti, od konkurencije potrošača, modela transporta, zapravo od celog sistema. Stoga ispravno modeliranje odnosa između broja listova i lisne površine, broja plodova i njihove mase treba da uzme u obzir i udaljenost između organa i prirasta a ne samo veličinu lisne površine. Sa stanovišta ekonomičnosti novi sistemi gajenja i koncepti rezidbe treba da optimalizuju efikasnost radne snage tokom života voćnjaka, i to ne samo putem ispravljanja tekućih problema zasenjenosti krune već i u anticipiranju grananja i cvetnja u narednim vegetacijama.

Po navodima (Mičića i sar. (2008) put od ekstenzivnih do visokointenzivnih sistema gajenja kod trešnje pređen je za relativno kratko vreme (20 godina). Razvoj ovih sistema gajenja išao je kao i kod drugih voćaka najpre preko selekcije slabo bujnih podloga, zatim izborom adekvatne kombinacije sorta–podloga, i na kraju razvojem uzgojnih oblika saglasno sistemu vretena. Krajnji cilj je zapravo podrazumevao svođenje skeleta na stožinu i definisanje rezidbe saglasno biologiji formiranja i dinamici plodonošenja različitih kategorija rodnog drveta.

Osnovno otvoreno pitanje u intenzivnim sistemima gajenja trešnje je kako zadržati vegetativne tačke rasta u zoni centralne osovine, koje su neophodne za kontrolu formiranja uzgojnog oblika i cikličnu zamenu rodnog drveta odgovarajućeg rodnog potencijala. Odgovor je nađen u reintegraciji bujnih podloga u modernim sistemima gajenja trešnje. Intenzivni sistemi gajenja na podlogama veće bujnosti znatno lakše kontrolišu razvoj vegetativnih tačaka rasta, ali traže i visoku preciznost u agro- i pomotehnici i uspostavljanju osnovne strukture skeleta, kao i u cikličnoj smeni svih kategorija prirasta u okviru datog sistema gajenja. Zadovoljavajući rezultati su postignuti sa vretenima (Canovo, Vogelovo, Brunerovo). Španski grm i njegove modifikacije na srednje– i bujnim podlogama (Colt, magriva, Maxma Delbard 97) daju nešto više mogućnosti i slobode u formiranju krune, gde se uz permanentno primenjivanje zelene rezidbe do 3. godine starosti stabala formira skeletna struktura završno sa trećom ravni reza, dok se u slučaju slabo bujnih kombinacija sorta–podloga skeletna struktura formira završno sa drugom ravni reza. Naime, kod španskog grma akcenat se stavlja na manje preciznu kontrolu ciklične smene u formiranju i plodonošenju rodnog drveta u odnosu na vretena. Radikalni tretmani skeletne strukture podrazumevaju zamenu nosača u višegodišnjem ciklusu putem reza na patrlj, iz kojeg se razvijaju novi prirasti.

Zelena rezidba kao obavezna pomotehnička mera u intenzivnim zasadima trešnje počiva na biološkim osobinama rasta i razvoja ove voćke. Trešnja razvija dve kategorije zimskih pupoljaka: vegetativne i rodne. Ogoljavanje nodusa na kojima su bili formirani cvetni pupoljci predstavlja normalan završetak generativnog ciklusa organogeneze i na njega se ne može uticati nikakvim agro- i pomotehničkim merama. Za definisanje zahvata u pomotehnici trešnje, a naročito u zelenoj

rezidbi, ključno je saznanje koje će vegetativne kupe u pazusima listova do ulaska u mirovanje dati vegetativne a koje generativne pupoljke. Naime, prilikom zelene rezidbe koštičavih voćaka svi zahvati moraju tretirati pazušne vegetativne pupoljke, jer rezovi na buduće generativne pupoljke nemaju efekat pošto kolenca koja ih nose posle njihovog plodonošenja –ogoljevaju. Akrotoničan rast koji dominira kod trešnje podrazumeva izrazito jaku snagu rasta vršnog pupoljka i podređenost bočnih razgranavanja, kao i različit stepen ogoljavanja koji je proporcionalan rodnosti. Stoga je pitanje genotipske specifičnosti u rastu i razvoju svih kategorija prirasta u kruni zapravo osnovni element uspeha u rezidbi (Mičić i sar., 2008). Analiza plodonošenja i stvaranja rodnog čvora kod *majske kitice* trešnje takođe jasno ukazuje na ogoljavanje proporcionalno plodonošenju. Rodni potencijal ima izražen pad od 3. godine starosti nerazgranatog čvora, nastalog kao posledica plodonošenja. Stoga nosače rodnog drveta na kome se formiraju kitice treba rezidbom odstraniti kada napune 3 godine starosti, uz blagovremeno formiranje novih nosača za zamenu. Analiza plodonošenja i stvaranja rodnog čvora kod *vite rodne grančice* takođe pokazuje već iskazan pravilan stepen ogoljavanja shodno rodnosti, kao posledicu normalnog načina završetka generativnog ciklusa organogeneze. Izražen pad rodnog potencijala vite grančice od 3. godine starosti i bez obzira na razgranavanja rodnog čvora nastalog rastom i plodonošenjem otvara pitanje pomotehničkih zahvata u cilju formiranja i zamene rodnog drveta. Ovde su ključni problem vegetativni pupoljci u majskim kiticama i njihovo pozicioniranje duž nosača, s obzirom na promene ovog parametra tokom starenja samog nosača rodnog drveta. Naime, na njemu se tokom razvoja mogu jasno razdvojiti tri zone (zone ogoljavanja, kao i zone vegetativnih i generativnih pupoljaka) koji su u mladosti obećavajuće sa stanovišta visokog potencijala rasta i rodnosti. Nosač star 6 godina ima bitno smanjene zone rasta i plodonošenja, dok zona ogoljavanja zauzima najveći deo. Sa daljom starošću nosača ovakva tendencija se samo povećava, čineći da je rast sveden na minimum a plodonošenje-simbolično. Kod koštičavog voća rodne grančice sa čisto cvetnim pupoljcima, koji su u različitom odnosu i kombinacijama sa vegetativnim pupoljcima, analitički se mogu razvrstati na različite tipove organogeneze rodnog drveta shodno vremenskom periodu i poretku grananja koji je potreban vegetativnim tačkama rasta da formiraju određene tipove rodni grančica. Takođe je zapažena tendencija smanjenja snage rasta i rodnog potencijala u višim poretcima grananja. Rezidba trešnje u cilju kontrole rasta i rodnosti najčešće se primenjuje s ciljem da se spreči prerođavanje ali i prosvetli unutrašnjost krune. Pomotehničko rešenje kod trešnje podrazumeva zahvate podmlađivanja koji moraju biti izbalansirani sa dužinom mladara zbog procesa ogoljavanja, koje čini da podmlađivanje neće dati adekvatan odgovor. Dakle, zahvatima rezidbe potrebno je izbalansirati veličinu i broj plodova po jedinici proizvodne površine u odnosu na broj novih prirasta. Takođe je potrebno pratiti međusobni uticaj ova dva parametra, posebno

kada se rezovi rade na višegodišnjim nosačima različite starosti. Pravilo je da prekraćivanje može obuhvatiti 20–25 % nosača rodnog drveta u toku jedne vegetacije, a da se njime ne utiče na krupnoću ploda. Pravilno izvedeni povratni rezovi na patrlje različite dužine traže pravilno odmeravanje jačine rezidbe, što se posledično ocenjuje na osnovu prisustva i bujnosti kratkih i dugih prirasta. Izbalansiran odnos majskih kitica i vitih rodni grančica u kruni jasan je znak pravilno izvedene rezidbe. Jačim nosačima u kruni slama se snaga rasta putem zahvata rezidbe na luk (priprema budućeg nosača rodnog drveta) i kondir (za dobijanje kvalitetnog roda) u sklopu zelene rezidbe. Autori Mičić i sar. (2008) u prvi plan stavljaju letnju rezidbu, dok je zimska rezidba, izvedena pri zelenom vrhu pupoljka samo korektivna i podrazumeva proredu pupoljaka i rodni grančica. Izvedene su i norme za savremene sisteme gajenja trešnje: prinosi u nivou 1,7–2 vagona/ha (14–16 kg/stablu) pri gustini sklopa od 4×2 m i traženoj krupnoći ploda prečnika preko 30 mm (mase veće od 11,5 g) zahtevaju obezbeđenje 10,5–12 dužnih m nosača rodnog drveta, uz dodatnih 20 % za rezervu, tj. oko 1,5 kg roda/m nosača rodnog drveta. Rezidba na rod ide na formiranje novih prirasta za sukcesivnu zamenu nosača rodnog drveta, uz otvorena pitanja vezana za proređivanje plodova i pupoljaka.

Faktori koji uslovljavaju diferenciranje začetaka cvetova u pupoljcima razvrstani su u tzv. faktore nasledne prirode, zatim biohemijske (u smislu uspostavljanja fiziološke ravnoteže između pojedinih gradivnih makroelemenata, fitohormona), ekološke (fotoperiodizam, toplota, vlaga), i faktore agro- i pomotehničke prirode.

Kao rezultat intenzivnih proučavanja u poslednjih 20–30 godina, dobijene su nove informacije o diferenciranju začetaka cvetova u pupoljcima kod jabuke i trešnje, uključujući tu i gensku osnovu regulacije ovog procesa. Koutinas et al. (2010) navode tvrdnje više autora kako je diferencijacija rodni pupoljaka kompleksan fenomen, a da se inicijalni razlozi formiranja cvetova mogu definisati kao 'nešto što se desilo između gena zaduženih za formiranje cvetova i mejoze'. Pobuđivanje procesa diferencijacije može značiti nešto slično deblokadi gena odgovornih za ovaj proces. Identifikacija i karakterizacija određenog broja tzv. *homeotičkih gena*, povezanih sa procesima diferencijacije začetaka reproduktivni organa tj. odgovornih za regulaciju razvoja različitih anatomskih struktura putem programiranja različitih transkripcionih faktora, kod model vrsta u svetu skrivenosemenica (*Antirrhinum majus* L., *Arabidopsis thaliana*) dozvolili su pronalaženje njihovih homologa u svetu voćaka u poslednjih deset godina, a naročito kod jabuke kao najznačajnijeg predstavnika vrsta voćaka umerenog pojasa. Kod nje, kao i kod drugih voćaka formiranje cvetni pupoljaka prolazi kroz sledeće faze: pobuđivanje procesa diferencijacije, histološka transformacija i morfološka diferencijacija (Buban i Faust, 1982, citat). Indukcija procesa diferencijacije daje jedan impuls dovoljno razvijenim i 'osetljivim' pupoljcima za tranziciju

od vegetativne ka generativnoj fazi diferencijacije. Moglo bi se reći da je ovo kvantitativna promena u koju su, pretpostavlja se, uključeni geni tipa AFL (apple floricaule/leafy, tzv. homeotički flo–geni), s obzirom na njihovo prolazno ispoljavanje u najranijim fazama razvoja cveta: braktejama pupoljka, potom začecima čašičnih i kruničnih listića, ali ne i u primordijama prašnika. Kada vrh meristema vegetativnog pupoljka primi signal za diferencijaciju u generativnom pravcu, mitotička aktivnost postaje potpuna za ceo meristemski vrh, istovremeno menjajući njegovu histološku strukturu. Centralni meristem je odgrnutiji, neposredno je ispod podpovršinskog omotača, i ovo rearanžiranje tkiva u odsustvu morfoloških promena u vrhu čini proces pobuđivanja nepovratnim. Dalje, morfološka diferencijacija dešava se samo ukoliko je struktura vegetativnog pupoljka kompletna. Rodni pupoljak jabuke je skraćena osa koja obično nosi 21 formaciju ubačenu u spiralnu sekvencu, niz. Sastoji se od pokrovnih listića pupoljka, tranzicionog lišća, pravih listova i brakteja. Osa se završava u začetku tzv. vršnog, 'kraljevskog' pupoljka a začeci cvetova se formiraju na osama tri brakteje i tri po položaju vršna lista. Ispod venca cvetova na osi 1. ili 2. lista lociran je začetak vegetativnih pupoljaka. Diferencijacija cvetne primordije kod jabuke može otpočeti kada je primordije bočnih priraslica već pobuđene. Oni se kompletno formiraju pre pojave prvog pokazatelja prolaska pupoljka iz vegetativnog u reproduktivnu fazu, iskazanog u vidu kritičnog broja članaka na prirastima jabuke. Ovaj broj varira u intervalu 16–20 i sortno je specifičan, kao i broj priraslica koje se formiraju s pojavom čašica vršnih cvetova u cvasti. Formiranje odvojenih cvetova u rodnom pupoljku trešnje je gotovo istovremeno. Izvesne razlike u fazama razvoja cvetova unutar rodnog pupoljka višnje mogu se primetiti počev od inicijacije antera i karpela, ali nakon toga svi cvetovi izgledaju identično.

Razvoj cvetnih pupoljaka tokom celokupnog procesa diferencijacije podlozan je uticaju različitih faktora. Pored već spomenutog genotipski definisanog početka histoloških i morfoloških promena Koutinas et al. (2010) navode i uticaj podloge u istom smislu. Naime, kod jabuke njihov uticaj definisan je određivanjem vremena terminalnog porasta mladara i kao i kritičnog broja bočnih priraslica u procesu tranzicije pupoljaka od vegetativne ka generativnoj fazi diferencijacije. Podloge različite bujnosti, međutim, nisu značajnije uticale na inicijalni razvoj cvetnih pupoljaka kod pojedinih sorti višnje, kako navode autori. Uticaj prestanka vegetativnog rasta, depresirajućeg uticaja plodova, pozitivne citohemijske promene u smislu povećanog sadržaja nukleinskih kiselina, hormonalna uslovljenost procesa diferencijacije samo su neki od faktora koje pomenuti autori ističu kao određujuće za proces diferencijacije u generativnom pravcu. *Kvalitet reproduktivnih organa* tj. sposobnost cvetova jabuke da zametnu plodove, kao i njihova forma i veličina u uskoj su vezi sa morfologijom cvasti, koja je u obrnutoj sprezi sa fazama razvoja cvetnih pupoljaka, ostvarenim u vreme cvetanja prethodne godine. Naime, zapaženo je da u uslovima odsustva bujnosti proces

diferencijacije u generativnom pravcu startuje ranije, ali je krajnji rezultat lošiji, u smislu produkcije tzv. 'starih' pupoljaka koji će dati sitno primarno lišće i sitnije zametnute plodove. Obrnuto, kod bujnih i stabala opterećenih rodnom proces diferencijacije počinje kasnije u proleće i kao rezultat formiraju se tzv. 'mladi pupoljci' sa krupnim primarnim listovima koji ne zameću dovoljno plodova. Starost rodnog drveta takođe utiče na kvantitativne osobine cvasti, pa tako one cvasti koje su na jednogodišnjem drvetu obično produkuju cvasti većih dimenzija kao i veće i tamnije primarno lišće koje je od presudnog značaja za zametanje i dalji rast plodova; cvetanje na mladom rodnom drvetu je obično produženo, što povećava šansu za efektivnu polinaciju. Kvalitet cvetova trešnje se može povezati sa vremenom cvetanja, a ono povratno zavisi od pozicije cvetova na rodnoj grančici. Utvrđeno je pravilo: što je kasnije cvetanje to je manja masa svežih cvetova, tučkova, plodnika, plodova, kao i sadržaj rastvorljive suve materije u plodovima trešnje. Ovde je takođe bitna i starost rodnog drveta. Cvetni pupoljci raspoređeni na starijim rodnim grančicama generalno kasnije cvetaju u odnosu na iste razvijene na mladom rodnom drvetu. Kvalitet pupoljaka i cvetova višnje određuje stepen njihove otpornosti na mraz. Ogledi sa podlogom kolt pokazali su značajno smanjen kvalitet reproduktivnih organa ispitivanih sorti višnje, što je rezultiralo u većem procentu izmrzlih pupoljaka i smanjenom zametanju plodova. Autori Koutinas et al. (2010) dalje ističu i značaj rezidbe (zimske i letnje), đubrenja, navodnjavanja kao i primenu fitohormona, kao mogućih manje ili više uspešnih mera u regulisanju rodnosti kod jabuke i trešnje.

Poznavanje vremena i lokacije formiranja vegetacionih kupa koje će se po formiranju diferencirati u generativne pupoljke veoma je važno zbog definisanja odgovarajuće pomotehnike kojom se ovaj proces može modelirati. Naime, dugo vremena je pojava prvih histo–morfoloških promena na meristemskom vrhu posmatrana kao početak diferencijacije generativnih pupoljaka. Danas je poznato da ovim mikroskopski vidljivim promenama prethodi tzv. programna faza. To je period od trenutka kada vegetacione kupe ulaze u reproduktivnu fazu diferencijacije do momenta kada se ova pojava uočava na histo–morfološkom nivou (Mičić, 1993). Proces diferencijacije dakle obuhvata i raniju fazu reprogramiranja gena iz vegetativne u generativni program diferencijacije, po dobijanju stimulusa za obrazovanje cveta. Priroda signala za inicijaciju procesa diferenciranja je nepoznata, ali ovaj proces teče i preklapa se sa drugim aktivnostima stabla. Uslovi prirodne sredine takođe moraju biti dirigovani ka ovoj aktivnosti.

3.2. Uticaj ekoloških faktora na realizaciju rodnog potencijala i modeliranje

Uticaj visokih temperatura u uslovima visoke sunčeve radijacije na proces diferencijacije početaka cvetnih elemenata u pupoljcima trešnje tokom leta bio je analiziran od strane većeg broja istraživača (Beppu i Kataoka, 1999, 2000; Beppu et al., 2001; Bassi et al., 2007; Hansen, 2007;

Whiting i Martin, 2008). Najčešća posledica ispoljavala se u pojavi "plodova-blizanaca", tj. cvetova sa dvojnim plodnicima. Konstatovana je veća osetljivost kod pojedinih sorti (Lapins, Tieton, Satohnishiki), ali i upotreba slabo bujnih podloga poput Gisele 5 ili Piku 1, može pospešiti ovu pojavu. Prisustvo dvojnih plodova, kao pomološka anomalija bila je veća na vrhovima krune i sa južne ekspozicije, što jasno upućuje na mogućeg uzročnika ove pojave. Histo-anatomska proučavanja istakla su veliki uticaj letnjih temperatura, i to većih od 35 ° C na rodne pupoljke do trenutka inicijalnog diferenciranja elemenata tučka, što se obično odigrava nakon perioda jul–avgust mesec u jednom kraćem vremenskom periodu. Istaknuta je naročita osetljivost pupoljaka u trenutku prelaska iz faze diferencijacije čašičnih listića ka kruničnim listićima i primordijama antera. Generalno, embrionalna tkiva u ranim fazama diferencijacije pokazuju i najveću osetljivost na fiziološki stres izazvan visokim temperaturnim udarima (kraj juna-početak jula). Praktična rešenja za ekonomski održivo ublažavanje ovog problema u krajevima sa žarkim letima iznađena su u postavljanju mreža za senčenje, evaporativnom rashlađivanju krune stabala sa veštačkom kišom, ili upotrebi preparata na bazi kaolina.

Istraživanje nerodnosti kod popularne sorte trešnje Ziraat u aridnim uslovima zapadne Turske (Engin, 2008) pokazalo je da najtopliji deo vegetacionog perioda koji sledi posle berbe često izlaže stabla trešnje suši u jednom dužem periodu. U ovakvim uslovima stepen formiranja začetaka tučka bio je značajno smanjen, što ukazuje na ozbiljan stres kojem su bila izložena stabla trešnje. Stres suše dakle odlaže diferencijaciju začetaka tučka, i shodno tome produžava period osetljivosti primordija rodni pupoljaka na vodni stres praćen toplotnim udarima. Ogledni tretmani julskog navodnjavanja stabala ukazali su na brže odvijanje etapa u diferencijaciji rodni pupoljaka, tako da su već sredinom avgusta meseca bili formirani začeci čašičnih i kruničnih listića, kao i primordije prašnika i tučkova.

Naborano lišće i duboka šavna ulegnuća duž ventralne strane ploda trešnje, praćeni pojavom plodova-blizanaca su poremećaji (morfizmi) koji su veoma rasprostranjeni širom trešnjarskih regiona Kalifornije, Pacifičkog Severozapada SAD-a, Jute, u Britanskoj Kolumbiji. Ovi poremećaji imaju štetne efekte na vegetativni rast i prinos, pa se stabla na kojima se oni javljaju nazivaju 'bikovskim', 'muškim', 'neproduktivnim', a ekonomska šteta koju izazivaju verovatno je veća od ijedne druge bolesti ili različitih poremećaja koji su prisutni u ovim severnoameričkim centrima proizvodnje trešnje (Southwick, 1991 i 1999; Southwick et al., 1994). Pomenuti poremećaji prisutni na matičnim stablima mogu se kalemljenjem dalje proširiti, a ova pojava kao takva je prisutnija u toplijim regionima (Kalifornija). Između zdravih i poremećenih stabala nema razlike u stopi porasta mladara u kruni, ali stabla sa naboranim lišćem često proizvode obilje cvetnih pupoljaka koji mogu

i da se ne otvore; reproduktivni delovi ovakvih cvetova obično su defektni (opisuju se kao teratološke promene: tučkovi bezbojni, kratki i deformisani) i produkuju mali rod sa plodovima koji su mali, nepravilnog su oblika i sa izraženim vrhom i duboko ubrazdanim šavom. Ispitivanjima je konstatovano kako se ovi fiziološki poremećaji javljaju u pupoljku tokom diferencijacije začetaka cvetova. "Plodovi-blizanci" se formiraju kada se u jednom cvetu inicijalno diferenciraju dve karpele koje se tokom razvoja plodnika spoje, ali će se iz njih u konačnom procesu razviti samo jedan plod, dok drugi plodnik ostaje kao mali dodatak na njemu. Povećanje srednjih dnevnih temperatura u intervalu 25–28 ° C tokom leta (jun–septembar) je označeno kao glavni prouzrokovatelj teratoloških poremećaja, koji je rašireniji sa povećanjem broj sati sa temperaturama većim od 35 ° C. Korišćenje mikrosprinklera u cilju rashlađivanja krune vodom u periodu jun–septembar, i od kasnog popodneva do zalaska sunca, pokazalo se efikasnim u rešavanju ovog poremećaja izazvanog stresom tokom diferencijacije rodni pupoljaka.

Pojava teratoloških promena na cvetovima šljive požegače izazvana visokim temperaturama i ubrzanom diferencijacijom, opisana je kao morfološka sterilnost indukovana atrofijom nucelatnog tkiva u semenim zametcima (Mičić i sar, 1990; Mičić, 1992 i 1992a; Mičić i Đurić, 1998).

Proširenje areala gajenja trešnje u kineskim suptopskim monsunskim oblastima neizbežno dovodi do ranijeg odvijanja fenofaza i dužeg cvetanja, u poređenju sa istim u umereno kontinentalnoj klimatskoj zoni (Li et al. 2010). Gajene sorte imale su takođe više abnormalnih cvetova sa deformisanim tučkom u uslovima suptropske monsunske klime Šangaja, s obzirom da je diferencijacija rodni pupoljaka bila odložena usled visokih temperatura i preobilnih padavina, kao i intenzivnijeg i dužeg porasta biljne mase. Kritičan prelazni period od čašične ka kruničnoj diferencijaciji u pupoljcima trešnje gajene u Šangaju odvijao se krajem juna–početkom jula, kada su mesečne temperature bile najvišlje. Autori su izneli stav da visoka temperatura ubrzava degenerativne procese u semenom zametku i smanjuje stopu rasta polenovih cevčica, kao što i redukuje broj klijajućih polenovih zrna duž stubića tučka. Dodatno, primećen je i brz gubitak vitalnosti embrionovih kesica–čak dva dana nakon punog cvetanja. Zametanje plodova bilo je toliko malo da se uopšte razmišlja o smislu dalje komercijalne proizvodnje trešnje u ovim oblastima, i pored mogućih agro- i pomotehničkih rešenja. Njihovom primenom omogućilo bi se ubrzanije proticanje fenofaza, čime bi se osetljiv period diferencijacije rodni pupoljaka izmestio iz perioda najvišljih temperatura, a preterano bujan porast mladara suzbio u tretmanima sa vodonik–cijanidom, tj. upotrebom slabo bujnih podloga i jačom rezidbom.

Pitanje inicijacije diferencijacije generativni pupoljaka u uslovima skraćenog perioda mirovanja, u kome nema dovoljne akumulacije jedinica hladnoće tipično je za toplija područja i od presudnog je značaja za postojanje i proširenje komercijalne proizvodnje trešnje u

submediteranskim područjima (Oukabli, 2004; Oukabli i Mahnou, 2007). Komercijalno trešnjarenje u Maroku ostvaruje se na nadmorskim visinama većim od 1000 m, gde je moguća akumulacija više od 1500 sati sa temperaturama manjim od 7,2 °C, koliko se smatra dovoljnim za gajenje većine komercijalnih sorti. Ipak, usled ekonomskog pritiska zarade ova kultura je počela da se širi i na manjim nadmorskim visinama, gde je prisutna neadekvatna klima na koju su sorte koje se komercijalno gaje u Maroku neadaptirane. Primećeno je više anomalija: nedovoljna količina izdiferenciranih majskih kitica kao glavnih nosilaca roda u kruni trešnje, zatim česta pojava atrofiranog semenog zametka ili cvetova bez tučkova, tj. tučkova sa malim i neproširenim plodnikom u svojoj osnovi. Dalje, nucelarno tkivo je odvojeno od integumenata, što je vidljiv znak degeneracije semenih zametaka. Antere sadrže kesice polena koje se još nisu rasprle. Histološka ispitivanja su pokazala prisustvo ćelija u stadijumu tetrada, gde je tok mikrosporigeneze usporen a materinske ćelije polena još uvek nisu zrele. Nastale anomalije, konstatovano je, posledica su tzv. korelativne inhibicije koja se javlja tokom leta i dovodi do zaustavljanja rasta pupoljaka i započinjanja mirovanja. Tokom zimskog mirovanja inhibicija biva uklonjena dejstvom niskih temperatura, a tamo gde nema dovoljne akumulacije jedinica hladnoće-mirovanje pupoljaka se produžava, i naposljetku dolazi do formiranja mase malih i deformisanih cvasti. Ovo pitanje postaje sve aktuelnije sa tendencijom globalnog zagrevanja i inicijalnom promenom klime, što već sada nameće pitanje izbora sorti za one rejone u kojima neće biti dovoljne akumulacije niskih temperatura za fiziološko mirovanje.

3.3. Anomalije tokom sporogeneze, gameto- i embriogeneze

Analizirajući uticaj kastracije cvetova trešnje kod samooplodnih sorti na degeneraciju semenih zametaka Hehdly et al., (2009) su konstatovali kako je emaskulacija cvetova smanjila zametanje plodova za više od 50 %. Negativni efekat se pozicionira na vremenski period od nedelju dana nakon punog cvetanja: tada je uvećanje mase tučkova kod kastriranih cvetova bilo manje, a degeneracija semenih zametaka ubrzana, u poređenju sa nekastriranim cvetovima. Zanimljivo je bilo ponašanje polenovih cevčica: one su u kastriranim cvetovima pokazale snažan porast na površini obturatora i u blizini semenih zametaka. Autori su otkrili kako je ovaj brzi rast u vezi sa degeneracijom semenih zametaka. Kastracija cvetova izgleda da je ubrzala degeneraciju semenih zametaka trešnje, rezultirajući u povećanju procenta cvetova sa oba degenerisana semena zametka. S obzirom da je dobro poznato kako polenove cevčice gube svoju usmerenost u blizini jednog nevitalnog semenog zametka, nije neobično što je kod kastriranih cvetova trešnje konstatovan nizak procenat zametnutih plodova.

Oprašivanje (polinacija) po definiciji predstavlja proces dopremanja i nanošenja polena na prijemčivu površinu žiga tučka. Vremenske prilike generalno mogu uticati na zametanje plodova, što dolazi do izražaja naročito danas, u uslovima globalnih klimatskih promena. Postoji takođe obilje dokaza kako osobine cvetova takođe mogu uticati na proces polinacije, uključujući tu i boju cveta, korisnost nektara, širinu krunice i veličinu kruničnih listića kao i orijentaciju cvetova. Autori Zhang i Whiting (2012) navode kako obeležja cveta obično predstavljaju jedan adaptivni kompleks između odabiranja od strane polinatora i selekcije od strane drugih (abiotičkih i biotičkih) faktora. Značajno manje informacija dostupno je za razumevanje odnosa između abiotičkih faktora (fotoperioda, temperature, dostupnosti vode) i osobina cveta. Kod dominantno samooplodnih vrsta poput *Arabidopsis thaliana* prirodna selekcija favorizuje smanjeno prostorno razdvajanje između žiga tučka i antera. Nedavno je otkriveno da suša i stres izazvan toplotom favorizuju produkciju antocijanina u cvetovima kod brojnih vrsta. To upućuje na činjenicu kako ekološki uslovi, a naročito temperatura, snažno utiču na mnogobrojne segmente procesa oprašivanja, uključujući tu i razvoj ženskog gametofita, receptivnost žiga, dugovečnost semenog zametka, klijavost polena i porast polenove cevčice, kako je to konstatovano kod trešnje.

Za maksimalizovanje uspeha reprodukcije cvetnice su razvile različite strategije. Ukupna veličina cveta ili veličina krunice, dužina tučka i prašnika kao i njihova međusobna interakcija mogu promeniti stepen i efikasnost prometa polena kod stranooplodnih vrsta. Cvetovi trešnje takođe su razvili mnoge strategije za osiguranje uspeha reprodukcije, poput ritmičnosti sekrecije cvetnog nektara, čime su polinatori privučeni i postignuto je uspešno oprašivanje. Kod ove voćke takođe je zapažena pojava cvetova sa žigom i delom stubića tučka isturenim iznad neotvorene krunice; kod ovakvih cvetova žig obično ostaje isturen iznad nivoa antera u jednoj ravni nakon punog cvetanja. Ova pojava je zabeležena i kod kajsije i sasvim je jasno da ona čini entomofilnu polinaciju otežanom, naročito kod samooplodnih sorti. Kod oprašivanja putem insekata oblik cveta i relativna pozicija antera i dr. elemenata cveta definitivno utiče na ponašanje pčela, kakav je to slučaj kod cvetova breskve i nektarine, a rastojanje između žiga tučka i venca antera jeste važno za efektivan transport polena od oprašivača do žiga, bez obzira da li se radi o samo- ili stranooplodnom genotipu.

Pošto se anomalije cveta koincidentno javljaju zajedno sa ekološkim poremećajima, pojava defekata može rasvetliti nivoe stresa koje biljke doživljavaju. Autori Zhang i Whiting (2012) su u sprovedenim poljskim istraživanjima povezali pojavu incidentnih isturenih tučkova sa temperaturom. U ogledu sa tri temperaturna programa dan-noć (24/12 ° C; 18/6 ° C; 10/2 ° C), koji su najpodudarniji sa prirodnim temperaturnim uslovima koji vladaju u državi Vašington na Pacifičkom Severozapadu SAD-a tokom cvetanja trešnje, autori su konstatovali kako se prirodna

pojava isturenih tučkova u cvetovima često javlja (na nivou 0–23 % kod čak 63 % sorti u kolekciji trešnje državnog univerziteta u Vašingtonu), a najčešće kod samooplodnih sorti (Lapins–23 %; Sweetheart–11 %). Nije otkrivena ili dokazana jasna veza između vremena cvetanja, berbe i pojave isturenih tučkova, iako su cvetovi sa ovakvim anomalijama cvetali 3–5 dana kasnije od normalno razvijenih cvetova dok je nivo zretosti ploda bio isti kod oba tipa cveta, u odsustvu stresnih vremenskih uslova tokom fenofaze cvetanja. Zapažena je pravilnost kako se pomenuta anomalija javlja češće kod poznije otvorenih cvetova, a sve to dovodi do stvaranja nešto sitnijih plodova. Otkrivena je pozitivna korelacija između visokih temperatura i veličine krunice kao i dužine cvetne drške, uz veću učestalost defektnih cvetova kod određenih sorti (Sweetheart, Regina: 13 i 20 %, po redu) u svim temperaturnim režimima u odnosu na druge sorte (npr. Bing 3 %). Analizirajući klimu regiona u kojem se ogled odvijao, autori su konstatovali kako se ona odlikuje toplim, suvim letima sa temperaturama oko 30° C dok su zime umereno hladne. Kolebanje temperature u toku 24 h je relativno visoko tokom leta i kreće se oko 19° C, dok je tokom zime ono ograničeno na oko 8° C. Autori su tokom ogleda primetili različitu osetljivost pojedinih organa cveta na primenjeni temperaturni režim. Višlje temperature obično povećavaju veličinu cvetova (dužinu cvetne drške i površinu krunice) kod ispitivanih genotipova, dok je rast tučka izgleda više genetski determinisan i zavistan od stanja internih resursa. Prethodna istraživanja dr. autora rasvetlila su i ulogu pojedinih gena, poput *FRI*, na morfologiju cveta. Stoga identifikovanje gena koji su povezani sa promenom osobina cvetnih organa pod određenim ekološkim uslovima bi moglo biti korisno za objašnjenje njihove uloge u indirektnoj pojavi isturenih tučkova. Iako je za očekivati da bi ispoljena anomalija trebala da smanji verovatnoću oprašivanja, s obzirom na dužu izloženost žiga tučka spoljašnjim uslovima a pre bilo kakve naznake posete oprašivača kao i većeg rastojanja između žiga tučka i prašnika, ispostavilo se da su čak i kod sorte sa najviše ispoljenom anomalijom (Lapins) deformisani cvetovi bili posećeni od strane pčela i uspešno oprašeni. Ispitivanja pokazuju kako su kompresovani filamenti prašnika brzo počeli da se izdužuju do pozicije iznad žiga tučka, iako je ovaj poslednji dominirao svojom visinom pre cvetanja trešnje. Samooplodne sorte trešnje obično imaju žigove tučka pozicionirane u istom nivou ili malo ispod antera što svakako povećava efikasnost dopremanja sopstvenog polena cveta do njegovog žiga. Razlika u visini između polnih elemenata cveta kod kajsije je sortna osobina, iako i vremenske prilike imaju uticaj na ovaj parametar; primećeno je da u situaciji kada je pozicija žiga u cvetu kajsije svega nekoliko mm iznad nivoa antera–žig tučka ima malo ili nimalo polenovih zrna na sebi nekoliko dana nakon otvaranja cvetova. Samooplodne sorte sa dugim stubićima tučka mogu se u ovakvim uslovima ponašati kao samobesplodne, iskazujući nizak procenat zretih plodova. Ogledna ispitivanja Zhang i Whitinga (2012) pokazala su da iako je anomalija isturenih tučkova bila prisutnija kod cvetova

samooplodnih sorti, većina njih je imala višlje pozicionirane antere u odnosu na tučkove nakon cvetanja, izuzev kod sorte Lapins. Sorte atraktivnijih cvetova za oprašivače poput onih krupnih, sa dugim tučkovima kod hronično niskoprinosne sorte Benton ipak nisu bili zametnuti u većem stepenu, kao što je i rastojanje između žiga tučka i antera bilo najkraće kod sorte Celeste i pre i posle cvetanja. Sve ovo upućuje na dominantno genotipsku determinisanost porasta filamenata i cveta uopšte (kraći filament kod samooplodne sorte Benton i niska stopa rasta cvetnih elemenata kod sorte samobesplodne sorte Tieton), u odnosu na uticaj uslova spoljašnje sredine.

Autori na kraju zaključuju kako, iako receptivnost žiga tučka igra važnu ulogu u reprodukciji i efektivnom periodu polinacije i kako ona može biti značajno umanjena sa visokim tj. produžena sa niskim temperaturama, ogledno praćena anomalija cvetova ipak nije uticala na receptivnost žigova kao ni na zametnutost plodova kod ispitivanih sorti. Navodi *Stöser-a i Anvaria (1983)* govore o tome kako papile žiga tučka kod cveta trešnje gube turgescenciju 1–2 dana nakon cvetanja i kolabiraju kompletno nakon 4–5 dana. Visok stepen zametnutosti plodova kod cvetova sa isturenim tučkovima ukazuje da kod žigova izloženijih spoljašnjim uslovima duže nego uobičajeno postoji i širi opseg njihove receptivnosti za polen, iako ova osobina (receptivnost) jeste u izvesnoj meri uslovljena faktorima spoljašnje sredine.

Analizirajući anomalije u diferenciranju cvetnih elemenata kod najznačajnije turske sorte trešnje Ziraat 0900 kao uzrok niskog prinosa, grupa istraživača (Sarisu i Askin, 2014) je primetila nekompletni nucelus u unutrašnjosti integumenata tokom fenofaze cvetanja kod ove sorte. Kompletiran razvoj organa cveta tokom pomenute fenofaze, a posebno zrelo semeni zametak, pokazao se kao važan faktor u procesu oplodnje. Zrelost semenog zametka ogleda se u broju prisutnih jedara u embrionovoj kesici tokom punog cvetanja. Kod kajsije i višnje njihov broj mora biti 4, a kod šljive 2–4. Nivo razvijenosti semenih zametaka takođe se objašnjava i statusom jedara koji je bitan. Kod morfološki atipičnih cvetova šljive dolazi do atrofije semenog zametka, počevši od halaznog regiona nucelusa, u trenutku pojave fenofaze balona. (Mičić, (1992a). Degeneracija semenog zametka je još jedan problem kod procesa oplodnje, pored gore navedenih abnormalnosti nucelusa. Ovi degenerativni procesi u ranoj fazi vezani su za ekološke faktore, a neki su u osnovi genetičke prirode. Degeneracija tkiva semenog zametka povezana je sa akumulacijom kaloze u njemu. Premeštanje metabolita u nucelus prekida se u trenutku akumulacije kaloze na halaznom regionu semenog zametka, što neposredno prethodi morfološkoj degeneraciji semenog zametka, kako je to dokazano u većem broju istraživanja. Starenje semenog zametka igra važnu ulogu u tzv. Efektivnom periodu polinacije i u zametanju plodova kod voćaka-stablašica. Dugovečnost semenih zametaka generalno je kontrolisana faktorima prirodne sredine i traje 1–8 dana kod trešnje, zavisno od sorte i temperature. Deformacija i degeneracija semenih zametaka tokom punog cvetanja ima

odlučujući uticaj na oplodnju i rodnost kod trešnje. Stoga se pristupilo ispitivanju stepena deformisanosti nucelusa tokom punog cvetanja kod dva klonova pomenute sorte, gajenim na dve podloge (slabobujnoj i bujnoj). Merene su površina nucelusa i unutrašnje strane integumenata na njihovim najrazmaknutijim tačkama. Prikupljeni su takođe i temperaturni podaci u periodu 1. cvetanje–otpadanje kruničnih listića (april–maj) radi dobijanja srednjih dnevnih temperatura tokom cvetanja.

Ispitivanja su pokazala kako nije bilo genotipske razlike u dimenzijama nucelusa. Ipak, nucelus nije bio kompletno razvijen unutar integumenata, jer je bilo primećeno nabiranje tkiva u njegovom srednjem delu. Ovo je posledično dovelo različitih odnosa u merenim površinama nucelusa i unutrašnjih strana integumenata, što je kao osobina bilo statistički značajno različito u ispitivanim godinama i među ispitivanim genotipovima. Ipak, razlike u razvijenosti embrionove kesice nisu bile primetne, pošto su one generalno uspevale da obrazuju 4–8 ćelija tokom punog cvetanja trešnje. Prethodna ispitivanja deformisanosti semenih zametaka kod sorte Ziraat pokazala su kako je ova abnormalnost uzrok niskog stepena zametanja plodova, s obzirom da je najveći broj semenih zametaka abortirao ili bio nedovoljno razvijen tri dana nakon punog cvetanja, a registrovan je i vrlo mali broj razvijenih embrionovih kesica 12. dana od punog cvetanja. Ovi rezultati su potvrđeni i u postojećem ogledu, pa su Sarisu i Askin, 2014 došli do zaključka kako je pojava slabih ili nedovoljno razvijenih semenih zametaka izgleda sortna osobina koja je odgovorna za slabo zametanje plodova kod ove sorte (oko 13 %, za razliku od neophodnih preko 25 % za dobar rod kod trešnje). Neki klonovi sorte Ziraat pokazuju dobru rodnost u nekim zasadima trešnje, pa su autori zaključili kako je deformacija nucelusa genetički kontrolisana, ali je i pod delimičnim uticajem podloge i ekoloških uslova. Pojava abnormalnih nucelusa tokom punog cvetanja u sprovedenom ogledu ipak je bila potpuno odvojena pojava od procesa degeneracije semenih zametaka.

Proučavajući morfologiju polena trešnje i ornamentike egzine sa skenirajućim mikroskopom SEM, Mičić i sar. (1987) su najpre izneli konstataciju kako se ovo oruđe pokazalo korisnim za proučavanje taksonomije blisko srodnih vrsta i klonova, s obzirom na trikolpatni oblik polenovih zrna kod jabučastih, koštičavih i jagodastih voćaka i različitu morfologiju egzine (na nivou vrste). Ranija posmatranja polenovih zrna pod uveličanjem 5–10.000 puta su pokazala sortnu ali i individualnu specifičnost u ornamentici egzine, čime je pouzdana determinacija sorte na osnovu morfologije egzine dovedena u pitanje. Detaljna analiza broja tektatnih perforacija i broja grebena (reticuluma) po jedinici površine egzine kod polena 7 sorti trešnje koju su autori sprovedli, samo je potvrdila trikolpatni tip oblika polena, s tektatnim tipom retikularne ornamentike same egzine. Izdvojene su tri grupe sorti, shodno veličini polenovih zrna u suvom stanju (sitna, srednje krupna i

krupna) i konstatovano je kako je ovo stabilna (konzervativna) sortna osobina. Takođe je konstatovana i pravilnost da zrna sa većim brojem grebena imaju i veći broj perforacija, kao i da velika individualna varijabilnost ornamentike egzine polenovih zrna kod sorti ne dopušta korišćenje ove osobine kao pouzdanog parametra za determinaciju sorte.

Ispitujući dejstvo visokih temperatura tokom cvetanja na oplodnju kod trešnje u uslovima Mediterana Hedhly et al. (2007) su pošli od terenskih zapažanja o prisutnom promenljivom zametanju plodova tokom toplih proleća. Autori ovu vočku definišu kao vrstu adaptiranu na visoke nadmorske visine i hladne klimate u Španiji, što ih je navelo na zaključak o mogućim neželjenim efektima visokih temperatura tokom cvetanja trešnje na lokacijama sa manjom nadmorskom visinom. Autor citira zaključke iz sopstvenih prethodnih ispitivanja (Hedhly, 2003) u vezi sa negativnim efektima dejstva visokih temperatura na dužinu perioda receptivnosti žiga tučka i kinetiku polenovih cevčica; ovde se ističe snažna interakcija genotip-temperatura u pogledu geografskog porekla donora polena i njegove adaptacije na preovlađujuće uslove spoljašnje sredine. Generalno je poznato kako hladna i kišovita proleća mogu ugroziti oprašivanje, smanjiti brzinu rasta polenove cevčice i skratiti efektivni period oprašivanja, dok su relativno topla proleća često bila shvatana kao uvod u dobro zametanje plodova kod voćaka. Sve ovo ističe reproduktivnu fazu voćaka kao jednu od najosetljivijih razvojnih stadijuma na toplotne stresove, što se posledično odražava i na njihovu rodnost.

Hedhly et al. (2007) su postavili ogled sa dve sorte (Vignola i Sunburst, zajedno sa sortama oprašivačima), u dva tretmana (kontrola i toplotni tretman postignut prekrivanjem stabala sa polietilenskim kavezom u dvonedeljnom trajanju neposredno nakon punog cvetanja). Vršena je analiza otpadanja cvetova i plodića u periodu puno cvetanje–sazrevanje plodova, zatim mikroskopska analiza plodnika u smislu definisanja broja (onih sporofita koji su imali penetrirane polenove cevčice), veličine semenih zametaka i njihove vitalnosti (determinisane prisustvom depozita kaloze na halaznom polu degenerisanih semenih zametaka). Dobijeni rezultati ukazivali su na direktan uticaj povećane srednje dnevne temperature (u intervalu 1,4–3° C) na drastično smanjenje zametanja plodova u obe ogledne godine, naročito u prve 2 nedelje nakon punog cvetanja. To je definisalo konačni stepen zametnutosti plodova u periodu 3–4. nedelja nakon oplodnje. Dinamika porasta plodnika bila je slična u oba tretmana. Prisustvo primarnog i sekundarnog semenog zametka jasno je prepoznato shodno veličini i nastavku rasta primarnih ovula u periodu 4–7. dana nakon oprašivanja. Analizirajući događaje u okviru reproduktivne faze, autori su konstatovali standardan sled događaja tokom progamne faze: polen je klijao 24 h nakon oprašivanja i dosegao je osnovu stubića prorastanjem kroz sprovodna tkiva stubića u periodu 2–4 dana. Unutar plodnika rast polenovih cevčica tekao je po površini obturatora, kako bi se ostvario prodor u primarni semeni zametak, pošto je do tog trenutka sekundarna ovula već počela da se

degeneriše, uz evidentnu depoziciju kaloze na halaznom polu koja se širila preko nucelusa i integumenata. Prodor polenovih cevčica preko mikropile u nucelus ostvaren je 6. dana nakon oprašivanja, da bi embrioni bili primećeni vrlo brzo nakon toga. Konstatovano je kako je temperatura značajno ubrzala rast polenovih cevčica samo tokom prva dva dana nakon oplodnje, a brojnost samih cevčica bila je značajno niža u toplotnim tretmanima. Ovo smanjenje dovelo je do konačnog rezultata od svega 12% oplodjenih cvetova u toplotnim tretmanima, u odnosu na njih 25 % u kontroli. Iako su toplotni tretmani ubrzali degeneraciju oba semena zametka, brojnost cvetova sa ovakvim nivoom deformiteta bio je neočekivano isti u oba tretmana. Statistička analiza putem χ^2 -testa ukazala je na odsustvo efekta temperature na vitalnost ovula tokom prvih 5–10 dana nakon punog cvetanja. Autori su zaključili kako je bio evidentan negativni efekat visokih temperatura tokom cvetanja na zametanje plodova, baš kao što je to isto konstatovano u ispitivanjima kod dr. vrsta voćaka (breskva, kajsija, maslina). Finalni nivo zametanja, ostvaren u prve 3–4 nedelje nakon cvetanja, poklapao se sa istim kod dr. voćaka–stablašica i ukazao je na programnu fazu kao centralni proces osetljiv na dejstvo visokih temperatura. Registrovana pojava degenerisanih semenih zametaka rano tokom cvetanja izgleda da je standardna osobina kod vrsta voćaka trešnje i višnje, baš kao što je to objavljeno i kod kajsije, badema, masline i pistaća. Zaključeno je kako su semeni zameci visoko osetljive strukture na povećanje temperature, što se naročito odrazilo na visok procenat njihove degenerativnosti (čak 60 %) tokom oplodnje. Klimatske promene će u budućnosti češće donositi tzv. 'topla proleća', s obzirom da proučavanja vezana za povećanje temperature u vremenskim sekcijama ukazuju najpre na ovo doba godine, barem u Mediteranskim zemljama.

Obrazovanjem zigota započinje proces XI etape ciklusa organogeneze, *embriogeneza*, kod koje Lučić i sar. (1996) razlikuju embrion u globularnoj, srcastoj i torpedo formi (shodno obliku koji mladi embrion postiže intenzivnim deobama jedara), uz pojavu najpre mladog embriona (formirani su začeci osnovnih organa i kotiledoni), a potom i zrelog embriona, praćenog resorbovanjem endosperma i promenom boje semenjače. Naime, na sceni je prisutna i deoba jedara budućeg endosperma, koja je smeštena u zoni citoplazme poreklom od centralne ćelije. Formiranje jedarnog endosperma praćen je formiranjem haustorijuma (koji preuzima funkciju ishrane rastućeg endosperma, budući da uspostavlja vezu sa sprovodnim elementima u halaznom delu semenog zametka), suspenzora (uloga u mikropilarnoj ishrani klice), hipofize (embrionalne strukture u samom vrhu suspenzora čijom diferencijacijom će se kasnije formirati korenova kapa) i hipokotila (deo kotiledona koji uspostavlja vezu sa korenkom), a završava se do faze globularnog embriona. Kasnije citoplazma sa jedrima ispunjava središnji deo embrinove kesice (tzv. ćelijska forma endosperma koja se kod većine voćaka završava do faze srcastog embriona), da bi se u fazama formiranja zrelog embriona endosperm u potpunosti razgradio. Sam kraj embriogeneze praćen je

fenološkom promenom potamnjenja boje semenjače i potpunom morfološkom izgradnjom ploda (tzv. fiziološka zrelost i fenofaza šarka ploda) uz formiranje apscisnog sloja za odvajanje peteljke ploda od grane.

Proučavajući proces embriogeneze kod trešnje i višnje Keserović (1996) je najpre ukazao na njenu povezanost sa razvitkom ploda, zatim na genetičku kontrolisanost ovih procesa koji mogu bitno biti uslovljeni uticajem ekoloških faktora, ali i primenjenom agro- i pomotehnikom. Mikroskopsko posmatranje parafinskih preparata cvetova i zametnutih plodova kod četiri sorte trešnje i tri sorte višnje ukazala je na postojanje dve faze u razvoju semena: *proembrionalnu* (sadrži podfaze brzog rasta materinskih tkiva semenog zametka–nucelusa i integumenata, i formiranje nucelarnog endosperma i proembriona) i *embrionalnu* (sadrži tri podfaze: brz razvoj endosperma, diferenciranje i sazrevanje embriona). Formiranje kruškastog embriona praćeno je prelaskom jedarnog u ćelijski endosperm, koji obuhvata vreme od 21 do 29 dana. Razvoj endosperma inicira drugu fazu embriogeneze u kojoj nakon blagog izduživanja embrion dobija kruškasti oblik u roku od 2 do 5 dana. Sledi prelazak u loptasti oblik embriona radijalne simetrije, u kojem najpre zaravnjuje vrh, formiraju se primordije kotiledona (u roku od 22 do 28 dana, shodno ekološkim uslovima) i između njih se obrazuje embrionova kapa budućeg izdanka. Intenzivan porast kotiledona dovodi do pojave srcaste forme intenzivno rastućeg embriona, a potom i do potpunog potiskivanja endosperma koji ostaje rudimentiran u vidu tankih slojeva na njihovim rubovima. Na kraju druge faze embriogeneze kotiledoni su u potpunosti difrencirani, embrion je završio sa rastom a plodovi su fiziološki zreli, što se manifestuje u promeni (potamnjenju) boje semenjače.

Autor je etape embriogeneze usko povezao sa razvojem ploda: pojava loptastog embriona teče tokom prvog (intenzivnog) perioda porasta ploda; formiranje ćelijskog endosperma, razvitak tkiva i primordija organa u početnoj fazi razvoja embriona praćen je drugim (usporenim) periodom porasta ploda i lignifikacijom endosperma; u prvom delu trećeg perioda porasta ploda (intenzivan razvoj mezokarpa) embrion završava svoj rast. Imajući u vidu da je embriogeneza u direktnoj korelaciji sa razvojem ploda, autor s pravom navodi zaključke dobijene u prethodnim proučavanjima procesa organogeneze kod šljive (Mičić, 1992) o opravdanosti definisanja X, XI i XII etape orgnogeneze prema procesu embriogeneze. Keserović (1996) međutim navodi i anomalije koje su otkrivene tokom razvoja embriona u pojedinim sorti trešnje i višnje. Moguća je pojava sasušivanja integumenata i nucelusa koja posledično dovodi do sprečavanja formiranja endosperma većih zapremina, a potom i halazno manje razvijenog embriona. Poremećaji u razvoju plazmatičnog omotača, koji služi za prenos hranljivih materija iz endosperma u embrion, takođe dovode do poremećaja u embriogenezi, što posledično dovodi do otpadanja plodova. Pojava odsustva u razvoju endosperma, ili obrnuta orijentacija embriona u endospermu samo su još neke

su od anomalija koji se mogu pojaviti u embriogenezi trešnje i višnje, uključujući tu i moguću pojavu apomiksisa kod višnje, koja je ostvarena u tretmanima sa giberelinom pred oplodnju.

4. OBJEKAT, MATERIJAL I METODE RADA

4.1. Zasad

Ogledna stabla za predviđena histo-citološka istraživanja odabrana su krajem zime 2012/13. u kolekcionom zasadu trešnje Instituta PKB Agroekonomik u Padinskoj Skeli (Beograd, Srbija). Zasad je podignut je 1993. godine na podlozi divlja trešnja (*Prunus avium* L.) sa gustom sadnje 4×4 m. Krune stabala su oblikovane i održavane se u formi poboljšane etažne krune, a u zasadu je primenjivana standardna agro- i pomotehnika.

Ogledni zasad je lociran u neposrednoj blizini kanala Vizelj, na oko 20 km severoistočno od centra Beograda i zauzima sledeći geografski položaj:

- 44° 57' 23" severne geografske širine
- 20° 26' 15" istočne geografske dužine
- 71,9 m nadmorske visine.



Sl.4. Detalj kolekcionog zasada trešnje u kojem je postavljen ogled

Redovi u zasadu su postavljeni približno u pravcu istok-zapad i upravno na pravac kretanja dominantnih vetrova u beogradskom području.

Zemljište u oglednom zasadu

Ranije hidromeliorativne i pedološke studije zemljišta na Oglednom polju Instituta PKB Agroekonomik (1973., 1988. i 1998.) pokazale su da je na parceli na kojoj je lociran ogled prisutan specifičan tip zemljišta, tzv. beskarbonatni aluvijum na ritskoj crnici. U pitanju je srednje duboko

zemljište koje je po granulometrijskom sastavu glinovito. Stratigrafsku građu ovog zemljišta šini sloj aluvijalnog nanosa moćnosti 1–2 m u kome je zemljište ujednačeno po granulometrijskom sastavu (glinovita ilovača) celom dubinom sloja. Ispod aluvijalnog nanosa nalazi se humusni horizont pogrebne ritske crnice moćnosti 0,3–1 m koji je teškog granulometrijskog sastava, zbijeno i teško propustljivo za vodu.

Postojeći mehanički sastav zemljišta u oglednom zasadu preovlađujuće je uticao na odabir podloge za sortimentski zasad trešnje, koja je adaptirana na postojeće agropedološke uslove gajenja.

4.2. Sorte u ogledu

Ispitivanje genotipskih specifičnosti u organogenezi reproduktivnih organa trešnje obavljeno je na sortama Rana burlatova, Stela i Drojanova žuta, kao tipičnim predstavnicima rano-, srednjerano- i poznocvetnih sorti trešanja u agroekološkim uslovima Srbije (Radičević et al., 2011).

Rana Burlatova (*Bigareau Hativ Burlat*)

Sorta je nastala kao sponatni sejanac koji je izdvojen u dolini Rone (istočna Francuska) i u proizvodnji je od 1915. godine (selekcionar L. Burlat). U pitanju je srednje bujna-bujna sorta retke i razvedene krune koja je relativno tolerantna na dejstvo abiotičkih faktora (pozni mrazevi, suša) na području Balkana. Spada u ranocvetne, samobesplodne sorte (XVI grupa inkompatibilnosti, sa alelima S3S9) čija stabla nešto kasnije prorode i umereno rađaju. Rana Burlatova je u više zemalja Mediterana (Španija, Francuska) ali i u Srbiji prepoznata kao jedna od najkvalitetnijih ranih stonih sorti trešnje (zrenje je krajem II nedelje trešnje u Srbiji) koja zbog svojih mana (kasna i osrednja rodnost, neravnomerno sazrevanje plodova) sve više biva potiskivana iz sortimenta od strane kvalitetnijih ranih sorti trešanja.



Sl. 5. Detalj cvasti ogledne sorte Burlat

Stela (*Stella*)

Stvorena je u Kanadi (istraživačka stanica Summerland) ukrštanjem sorte Lambert i jednog od prvih samooplodnih sejanaca trešnje dobijenih zračenjem u engleskom Institutu John Innes (selekcionar K.O. Lapins). Ušla je u proizvodnju kao prva samooplodna sorta 1968. godine, a koristi se kao univerzalni oprašivač i za dobijanje dr. samooplodnih trešanja širom sveta. Radi se o srednje bujnoj sorti retke krune, srednjeg i obilnog cvetanja koja rano prorodi i redovno i obilno rađa, uz sklonost ka prerodavanju i produkciji sitnijeg ploda osrednjeg kvaliteta. Traži jaču rezidbu za dobijanje krupnijeg ploda. Danas je u zasadima zamenjuju novije sorte boljeg kvaliteta ploda koje sazrevaju u njenoj epohi (IV nedelja trešnje).



Sl. 6. *Ogledna stabla sorte Stela*

Droganova žuta (*Drogans Gelbe Knorpelskirsche*)

U pitanju je stara nemačka sorta nastala kao spontani sejanac u okolini Gubena (istočna Nemačka) početkom XIX veka. Spada u pozne sorte u pogledu cvetanja i zrenja (VI nedelja trešnje) koju odlikuje umereno bujna krošnja, redovno i obilno cvetanje i rađanje, kao i pojava samobesplodnosti (XIV grupa inkompatibilnosti, aleli S1S5). Zbog ćilibarno žute i debele pokožice, bezbojnog soka i specifičnog (trpkog), ali vrlo prijatnog ukusa mesa danas se u Srbiji masovno gaji na okućnici za preradu (slatko, kompot).



Sl. 7. *Cvasti na oglednom stablu sorte Droganova žuta*

U kolekcionom zasadu trešnje je odabano po pet prosečno dobro razvijenih stabala u rodu kod ispitivanih sorti, koja su obeležena, i sa kojih su, po obodu krune i sa sve četiri strane sveta prikupljane dobro razvijeni rodni pupoljci iz majskih kitica tokom procesa diferencijacije začetaka generativnih organa u pupoljcima (leto, jesen, zima, proleće 2013., 2014. i 2015. godine) metodom slučajnog izbora, u količini 20 pupoljaka/sorti. Nakon prebacivanja u biološku laboratoriju Instituta, uzorci su konzervirani u serijama rastvora fiksativa za potrebe izrade trajnih mikroskopskih preparata.

U periodu februar–april 2013–2015., tokom završnih etapa mikro- i makrofenofaza u organogenezi reproduktivnih organa trešnje, pomenuti biljni materijal za potrebe analiza je uzorkovan sa istih tipova rodni grančica na svakih 2–5 dana u sl. serijama (**Sl. 8-13**):

0. SERIJA: Nepokrenuti rodni pupoljci u zimskom mirovanju;
1. SERIJA: Nabubreli rodni pupoljci sa nerazmaknutim pokrovnim listićima;
2. SERIJA: Nabubreli rodni pupoljci sa blago razmaknutim pokrovnim listićima (zeleni vrh);
3. SERIJA: Jasno izdvojeni i zatvoreni cvetni pupoljci;
4. SERIJA: Cvetni pupoljci sa belom glavicom (uočljivi su beli vrhovi kruničnih listića);
5. SERIJA: Puno cvetanje (početak).



Sl. 8-12. Serije (1-5.) prolećno uzorkovanih generativnih pupoljaka

Ovime je ponovno prikupljanje biljnog materijala u novom zasadu, u kontinuiranom trogodišnjem periodu okončano, s obzirom na prekid histoloških analiza u prethodnom periodu (2006-2008), izazvanog krčenjem dela prethodnog oglednog zasada u poslednjoj godini ispitivanja.

4.3. Metode rada

Priprema i pravljenje trajnih mikroskopskih preparata generativnih pupoljaka trešnje sa parafinskom metodom obavljena je po sl. proceduri:

- Fiksacija sveže uzorkovanog biljnog materijala (rodni pupoljci iz majskih kitica) vršena je u laboratoriji Instituta PKB Agroekonomik u modifikovanom fiksativu Navašina (hromna kiselina 1%: formalin 40%: glacijalna sirćetna kiselina 99,8 %, p.a. u odnosu 10:4:1), pogodnom za fina anatomska i embriološka ispitivanja;

- Ispiranje uzoraka u tekućoj vodi u trajanju od 6 h u cilju pripreme materijala za mikrotehničke postupke kao i ostali elementi protokola pravljenja trajnih preparata Blaženčić (1994), obavljani su u laboratoriji za histologiju i citogenetiku Instituta za voćarstvo Poljoprivrednog fakulteta u Banjoj Luci. Protokol je izveden po sl. proceduri:

1. Dehidratacija i konzervacija fiksiranog biljnog materijala u seriji alkoholnih rastvora (20–95 %-ni rastvori) u trajanju od 20 minuta do 12 h (rastvori veće koncentracije);
2. Priprema za inkluziju biljnog materijala u parafin putem njegovog uvođenja u ksilol kroz seriju rastvora apsolutni alkohol: ksilol (3:1, 1:1, 1:3), pa potom u čist ksilol;
3. Nakon 24-časovnog boravka u rastvoru parafina u ksilolu, sledi zamena inkluzivnog sredstva čistim parafinom (dve smese različitih tačaka topljenja) i izlivanje pa potom kalemljenje pripremljenog materijala u anatomske blokove;
4. Rezanje parafinskih blokova mikrotomskim nožem na preseke debljine 10-12 μm na mikrotomu marke Leica RM 2135;
5. Lepljenje parafinskih preseka na predmetna stakla sa Majerovim lepilom i razvlačenje-ispravljanje preseka;
6. Deparafinisanje i hidratacija preseka u seriji od 14 rastvora (ksilol, ksilol-alkohol, alkoholni rastvori sve niže koncentracije, voda) uz konačno ispiranje u tekućoj vodi;
7. Bojenje preparata (diferencijacija boje) sa Delafildovim hematoksilinom pa potom ispiranje u vodi;
8. Dehidratacija preparata u seriji od 13 rastvora alkohola različite koncentracije (30%-ni do apsolutnog alkohola), pa potom u rastvore alkohol–ksilol (postepeno povećanje koncentracije ksilola) i naposljetku u rastvore ksilola, svaki u trajanju od po 5 minuta;

9. Uvođenje obojenih, dehidratiranih preseka u kanada balzam i montiranje pokrovnog stakla.



Sl. 13. *Termostat sa konstantnom 72 h-temperaturom za isparivanje ksilola u rastvoru parafina, u cilju pripreme parafinskih kalupa*



Sl. 14. *Parafinski blokovi izlepljeni na drvene nosače, spremni za sečenje na mikrotomu*

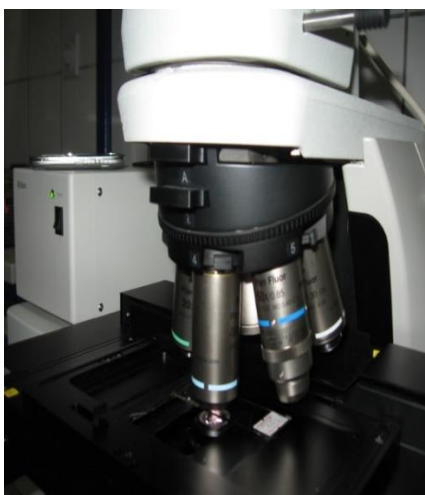


Sl. 15. Mikrotom Leica RM 2135 spreman za rezanje parafinskih blokova



Sl. 16. Obojeni preparati spremni za dehidratiranje

Histološki preparati pregledani su pod elektronskim svetlosnim binokularom marke Nikon ERG Ni-eclipse a potom citometrijski obrađeni softverom.



Sl. 17-19. Detalji rada na elektronskom svetlosnom binokularu marke Nikon ERG Ni-eclipse

4.4. Histologija diferencijacije generativnih pupoljaka i naklijavanje polena

Proučavanje procesa diferencijacije začetaka cvetova u pupoljcima na histomorfološkom nivou zasniva se na poznavanju ciklusa diferencijacije generativnih organa skrivenosemenica, definisanih na osnovu šeme Kupermanove koja je potom prilagođena svetu voćaka šemom Isaeva 1977. Šema podrazumeva razvitak pupoljka od primarnog meristema do semena u 12 pojedinačnih etapa organogeneze, od kojih su prve dve vezane za razvoj vegetativnih organa u pupoljku, a ostalih 10 na razvoj generativnih organa. Poznavanje i praćenje svake od etapa posebno je značajno, jer obezbeđuje mogućnost biološke kontrole rasta i razvitka različitih sorti u postojećim agroekološkim uslovima.

Generalna definicija procesa rasta i razvoja u biljaka (Mičić, 2018) pod *rastom* podrazumeva uvećanje elemenata rasta prostom ćelijskom deobom (mitozom) a pod *razvojem* uspostavljanje funkcije morfoloških elemenata građe (ćelija, tkiva, organa) u određenom biološkom sistemu, koji je u osnovi uređen dejstvom genetske osnove. Cilj primenjene biologije kakva je agronomska struka jeste da definiše pravce mogućeg upravljanja pomenutim procesima u cilju postizanja određene produktivnosti tj. održivosti jednog biološkog sistema kakav je voćnjak.

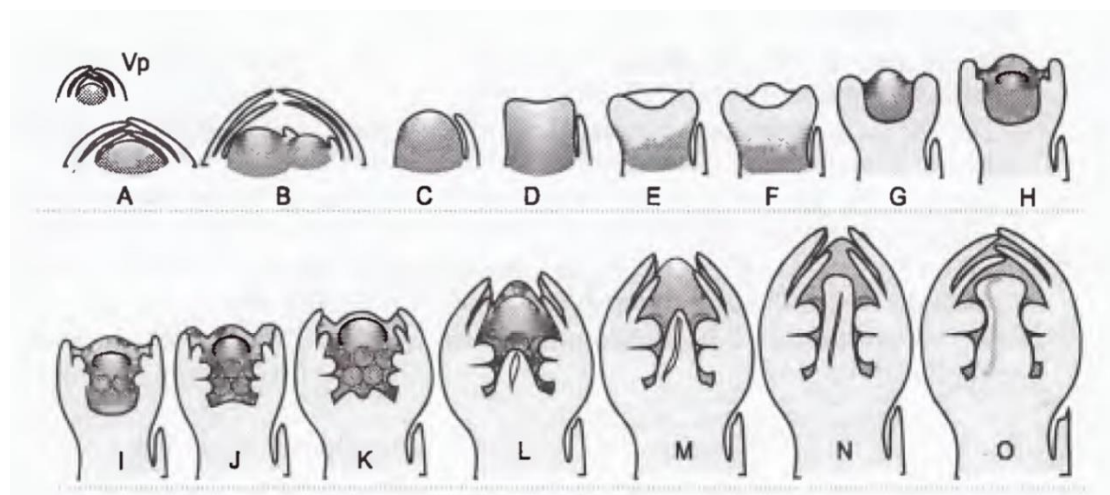
U pogledu toka organogeneze, većina definisanih 12 etapa i mnoštvo podetapa kod voćaka odvija se sukcesivno. U okviru jednog organizma, međutim, prisutni su uporedni tokovi diferencijacije ćelija, tkiva i organa, što je u saglasnosti sa biološkim principom autonomnosti rasta i razvitka istih.

U periodu mirovanja na jednogodišnjim rodnim grančicama kod trešnje nalaze se vegetativni i cvetni pupoljci. U vegetativnim pupoljcima prisutan je apikalni meristem prekriven pokrovnim i ljuspastim listićima i manji broj lisnih primordija, a u cvetnim pupoljcima prisutni su samo začeci cvetova različitog stepena diferenciranosti, takođe prekriveni pokrovnim i ljuspastim listićima. Iz cvetnih pupoljaka će se u vegetaciji razviti cvetovi i po oplodnji plodovi, zbog čega nodusi na kojima su bili pojedinačni cvetni pupoljci posle plodonošenja ostaju bez novih prirasta. Vegetativni pupoljci trešnje, kao i kod dr. koštičavih voćaka, formiraju različite kategorije jednogodišnjih prirasta, odnosno rodne grančice i letoraste. U zavisnosti od dinamike i vremena rasta ovih prirasta tokom vegetacije, formiraće se prirasti različite dužine i različite strukture pupoljaka. Kratke rodne grančice (majske kitice) imaju najkraći period rasta i na sebi nose uglavnom jedan vegetativni pupoljak na vrhu, a svi bočni pupoljci su usmereni ka generativnom pravcu diferencijacije. Mešovite rodne grančice obično dostižu rast od 10 do 25 nodusa (tj. potpuno razvijenih listova) i na sebi nose grupne pupoljke u kolateralnom rasporedu, vegetativne i generativne. Prirasti sa dužim periodom rasta i većim brojem nodusa uglavnom daju letoraste na

kojima su dominantno zastupljeni vegetativni pupoljci. Činjenica da se bočne vegetacione kupe na nodusima rodni grančica trešnje usmeravaju isključivo u pravcu generativne diferencijacije čini ovu kategoriju prirasta dobrom polaznom osnovom za proučavanje procesa promene karaktera meristema, odnosno ulaska vegetacionih kupa u generativnu diferencijaciju, u odnosu na utvrđivanje generativne inicijacije kod jabučastih voćaka koje je unekoliko komplikovanije zbog tipa rodni pupoljaka kao i organogeneze rodni grančica.

Osnovna zakonitost usmeravanja vegetacionih kupa u vegetativni ili generativni program diferencijacije predstavlja konzervativno svojstvo na nivou vrste. Razlike u strukturi pupoljaka izražene njihovom zastupljenošću i rasporedom duž grančica ispoljavaju se na nivou genotipa kao posledica ekofizioloških faktora, odnosno, kao rezultanta interakcije genotipa i uslova za rast, odnosno, dinamike rasta mladara.

Grafički prikaz (Sl. 21.) dinamike procesa diferencijacije začetaka cvetova u pupoljcima (Mičić, 1994), u smislu završetka razrastanja cvetnih začetaka u jednoj vegetaciji tokom perioda mirovanja i nastavak ovog procesa početkom sledeće vegetacije, sve do fenofaze cvetanja voćaka, poslužio je u ovom radu kao osnova za praćenje histologije diferenciranja generativni pupoljaka u serijama izrađeni trajni preparata. Takođe je korišćena i brojna fotodokumentacija diferencijacije generativni pupoljaka inostranih i domaći autora (Andreini i Bartolini, 2008; Bartolini *et al.*, 2013; Engin, 2006; Engin i Ünal, 2007; Engin, 2008; Guimond *et al.*, 1998; Lamp *et al.*, 2001; Mičić *et al.*, 1992; Németh *et al.*, 2008).



Sl. 7 Grafički prikaz mikrofenofaza u diferencijaciji cvetnih začetaka (A - O), dat kao šablon za njihovu determinaciju pri otvaranju pupoljaka pod binokularnom lupom u primeni biološke kontrole formiranja generativni pupoljaka šljive (Vp - meristematski vrh vegetativnog pupoljka).

Sl. 20. Grafički prikaz mikrofenofaza u diferencijaciji cvetnih začetaka (A-O)

(Mičić, 1994 orig.)

Produkcija polenovih zrnaca, njegova morfološka homogenost i klijavost, uz porast polenovih cevčica predstavljaju značajne komponente za ocenu sortne kompozicije a time i za uspešnosti oplodnje, naročito kod samobesplodnih vrsta voćaka. Međusortna varijabilnost kvaliteta i klijavosti polenovih zrna kod trešnje je vrlo česta i u osnovi je uzrokovana genotipom, ali i pravilnošću odvijanja samog procesa mikrosporogeneze, koja je u direktnoj vezi sa vitalnošću i klijavošću polenovih zrna *in vitro*. Metoda *in vitro* ispitivanja klijavosti polenovih zrnaca je korisna, brza i jeftina metoda koja se temelji se na pretpostavci da će polen koji klija i razvija se u polenovu cevčicu u *in vitro* uslovima verovatno učiniti isto i u *in vivo* uslovima, što će na kraju rezultirati oplodnjom jajne ćelije. Polen je prikupljen sa otvorenih cvetova oglednih stabala tokom fenofaze cvetanja ispitivanih sorti u oglednom periodu (2013-2015. godine), a potom je posejan na medijum (15% saharoze i 1% agara, 2 petrijeve kutije/sorti) i ostavljen u mraku na naklijavanje pri sobnoj temperature ($20 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Klijavost polena analizirana je nakon 2, 6, 10, 24 i 48 h inkubacije u više vidnih polja na svetlosnom mikroskopu marke *Nikon ERG Ni-eclipse*, pri uvećanju od 100 puta. Ocena proklijalosti izvršena je poštovanjem principa da su ona polenova zrna čija je dužina polenove cevčice bila veća od promera polenovog zrna-faktički klijala.

4.5. Histologija dinamike mikro- i makrosporogeneze

Integralno proučavanje toka diferencijacije tkiva antere i semenog zametka kao i mikro- i makrosporogeneze na histološkom i citogenetičkom nivou, u prostoru i vremenu, do sada je bio predmet analize ograničenog broja naučnih radova. Pitanja reproduktivne biologije vezana za probleme zametanja plodova, nastala su kao posledica dejstva kompleksa faktora, koji često dovode do neregularnog toka mikro- i makrosporo- ili gametogeneze, kao i embriogeneze.

Uzorci za histološke analize kod ispitivanih sorti uzimani su sukcesivno i saglasno dinamiци razvoja osnovnih organa i tkiva u mikro- i makrosporogenezi, počev od primordijalnih tkiva preko parijetalnog i sporogenog tkiva, praćenja endomitoze u tkivu tapetuma, mejotičke deobe i konačno mikrogametogeneze, kao i diferencijacije ovarijuma, semenih zametaka, integumenata i nucelarnog tkiva, zatim ženskog gametofita preko konstituisanja jajnog aparata pa sve do embriogeneze. U cilju sagledavanja regularnosti tokova pomenutih procesa u biljnom materijalu koji je bio predmet analize u istraživanjima, korišćena je brojna fotodokumentacija domaćih autora za procese mikrosporogeneze (Mičić, 1988a; Mičić i Đurić, 1995; Lučić i sar., 1996), makrosporo- i gametogeneze (Mičić, 1992a; Lučić i sar., 1996; Cerović i Mičić, 1996), kao i embriogeneze (Mičić, 1992 a; Lučić i sar., 1996; Cerović i Mičić, 1996; Cerovic *et al.*, 1999), ali i inostranih

autora (Burgos *et al.*, 2004; Herrero, 2000; Horsakova i Krška, 2014; Gallotta *et al.*, 2014; Jia *et al.*, 2013; Oukabli i Mahhou, 2007; Sarisu *et al.*, 2014; Viti *et al.*, 2008).

4.6. Modeliranje-algoritmi, matematički modeli, suma aktivnih temperatura

Ciklus organogeneze kao svojevrsno morfološko uobličavanje procesa rasta i razvitka, istovremeno i paralelno se odvija na većem broju različitih kategorija prirasta. Stoga ciklus, kao integralni proces, treba posmatrati na algoritamskoj osnovi, pošto se time pruža mogućnost integralnog proučavanja svih faktora koji posredno ili neposredno utiču na ovaj proces. Ovakvim koncipiranjem takođe se pruža i mogućnost neprestanog dopunjavanja osnovnog algoritma novim koracima, tj. međukoracima u procesima diferencijacije biljnog organizma, kao i definisanim uticajima primenjenih tretmana u vezi s njima.

Po definiciji, *algoritam* predstavlja konačnu i precizno definisanu proceduru, ili niz dobro definisanih koraka koji treba da dovedu do određenog cilja. Sama priroda organogeneze (ireverzibilnost, simultanost i sledljivost etapa rasta i razvoja) u saglasnosti je sa pomenutim matematičkim konceptom, dok je model s druge strane obezbedio precizno grafičko prikazivanje početka i toka dinamike diferencijacije tkiva i organa, uključujući i mogućnost šireg ispitivanja uticaja.

Sledeći koncept algoritamske osnove Mičić i sar. (1996) i Jevtić i sar. (1997) su razvili model za razvoj softvera koji je uključio i meteorološke podatke radi formiranja baze podataka za svaku etapu i podetapu organogeneze, s mogućnošću predviđanja dinamike razvoja određenih ekološki stresnih momenata poput suše ili ispitivane fenofaze (cvetanje).

Ekološki funkcionalni model pruža mogućnost modeliranja ekoloških funkcija u ciklusu organogeneze, a srž modela predstavlja softver koji pothranjuje dnevno zabeležene meteo-podatke u 7, 14, 21:00 h i koristi ih za trenutno izračunavanje trenda po formuli:

$$y=a + bx_1+cx_1^2+dx_1^3$$

Na osnovu ovog trenda model obračunava akumulaciju analiziranih parametara (ukupnu sumu aktivnih temperatura, kao i sumu aktivnih temperatura iznad biološke nule, što predstavlja graničnu vrednost ili biološki prag posmatrane ontogenetske razvojne etape). Za sumu srednjih dnevnih temperatura iznad definisane temperaturne biološke nule, model operiše po sl. formuli:

$$\sum_{t_1}^{t_2} t^0_C = \int_{t_1}^{t_2} f(x) dx - A(t_1 - t_2)$$

gde je:

* t_1 = prolazno vreme $f(x)$ trenda srednjih dnevnih temperatura iznad granične konstantne temperature;

* t_2 = momenat početka posmatrane fenofaze;

* A = granična konstantna temperatura (temperaturni prag razvojne fenofaze ili tzv. "biološka nula").

Biološka nula (biološki minimum za pokretanje vegetacije) predstavlja temperaturni prag svojstven vrsti biljaka i fenološkoj fazi iznad koje se javljaju temperature neophodne za aktiviranje procesa rasta i razvoja posle ekološkog mirovanja (temperature iznad kojih se prekida ekološko mirovanje i počinje vegetacija). Po Penzarovima I. i B. (1985) sve temperature veće od biološkog minimuma za određenu fenofazu kod biljaka zapravo su tzv. *aktivne temperature*, dok razlika između njih i biološkog minimuma predstavlja tzv. *efektivnu temperaturu*. Glavna korist od definisanja ovakvih temperatura je što se početak razvoja pojedinih fenofaza može dobro povezati sa akumuliranim vrednostima srednje dnevne temperature, aktivne temperature ili efektivne temperature. Zbrajanjem (akumuliranjem) tih temperatura dobijamo tzv. biološke sume aktivnih temperatura odnosno sume efektivnih temperatura u određenom razdoblju.

Koncept ekološkog funkcionalnog modela, koji je u istraživanjima organogeneze reproduktivnih organa trešnje u ovom radu prihvaćen i primenjivan u obračunima aktivnih i efektivnih temperatura za definisane etape mikro- i makro sporo- i geneze, koristio je biološku nulu za trešnju u vrednosti od 5°C. Srednje dnevne temperature obračunavane su kao sredina između zbira temperatura izmerenih u 7:00, 14:00 i duple vrednosti temperature u 21:00.

Diferencijacija generativnih organa i tkiva, kao i redosled i dinamika njihovog odvijanja, predstavljaju osnovu biološke kontrole rasta i razvitka u cilju adekvatne primene agro- i pomotehnike i programiranja realizacije rodnog potencijala kod voćaka. Ovaj proces je prikazan u formi algoritma konstituisanja muškog i ženskog gametofita kod 3 ispitivane sorte trešnje (Burlat, Stela i Droanova žuta), gde je diferencijacija tkiva i ćelija u navedenim procesima stavljena je u međusobni dinamički odnos sa izlaznim fazama formiranog muškog gametofita (polena) i razvoja embriona kao osnove održivosti ploda.

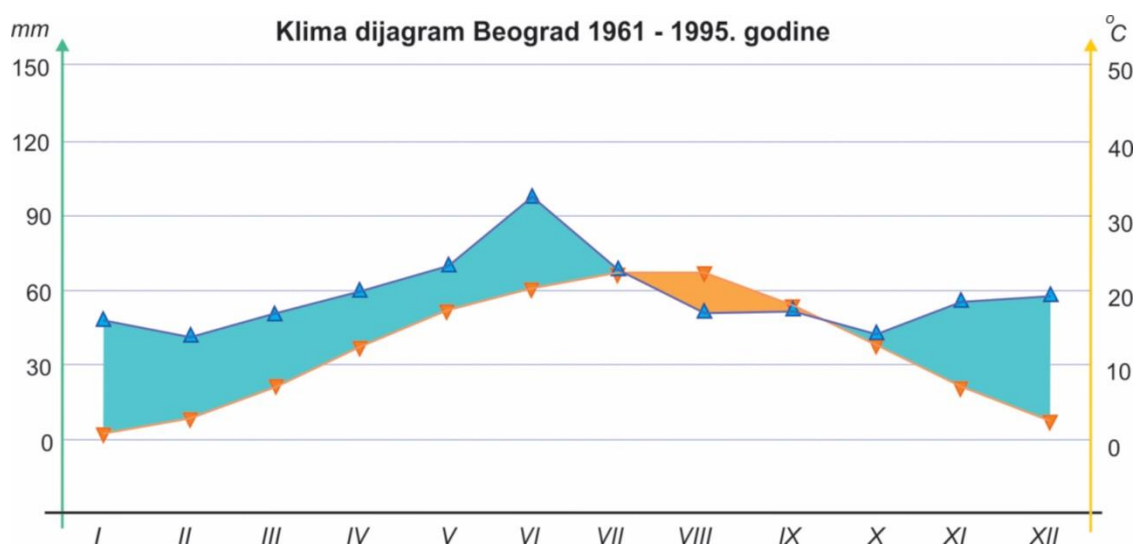
5. EKOLOŠKI USLOVI

Klima, kao ukupnost vremenskih stanja koja oblikuju određeni kraj u dužem vremenskom periodu (minumum 20 godina), definisana je meteorološkim parametrima kao što su temepratura vazduha i zemljišta, padavine, relativna vlažnost vazduha i njegovo kretanje, dužina i intenzitet osunčavanja.

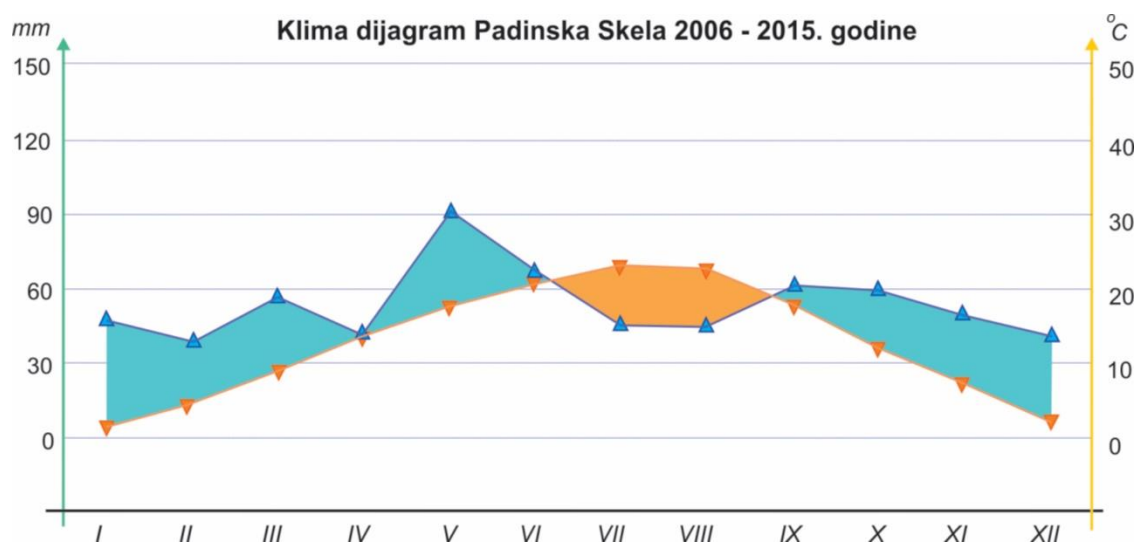
Ogled za praćenje specifičnosti u organogenezi reproduktivnih organa trešnje postavljen je na Oglednom polju Instituta PKB Agroekonomik, u okolini Beograda (Padinska Skela). Ogled je geografski lociran u prostorno specifičnom agroekološkom kompleksu poznatom kao Pančevački rit, koga su ranije agroklimatske studije definisale kao semiaridnu oblast sa visokim nivoom potencijalne evapotranspiracije praćenu prisustvom isušujućeg vetra Košave u proleće i u jesen, pojavom suše u letnjim i jesenjim mesecima praćenu dužim i intenzivnijim osunčavanjem, srednjom godišnjom temperaturom vazduha od 13.35 °C (srednja temperatura u periodu maj-septembar veća je od 15 °C), i prosečnom godišnjom količinom padavina od oko 550 mm koja je vremenski i prostorno nepovoljno distribuirana (Maričić, 1982; Božović, 1996).

Za potrebe prikaza vremenskih prilika i godišnjeg toka temperature i padavina, merenih na automatskoj meteorološkoj stanici "Fieldclimate" na lokaciji ogleda, upotrebljen je klima-dijagram po Waltheru. On grafički prikazuje odnos srednje mesečne temperature vazduha i količine padavina u odnosu 1:3, uz primenu principa da položaj padavinske krivulje ispod temperature ukazuje na prisustvo jake suše.

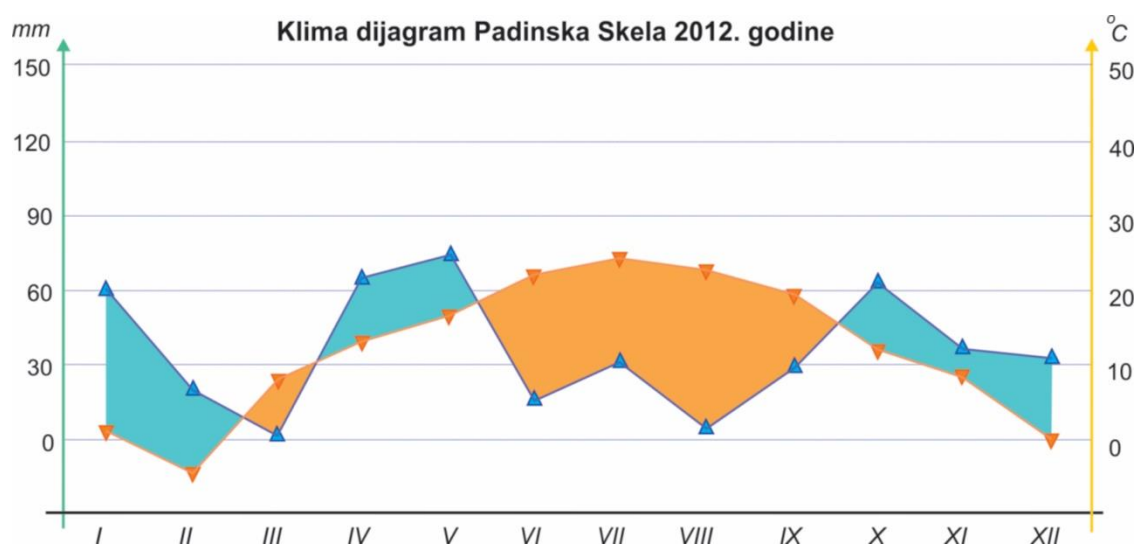
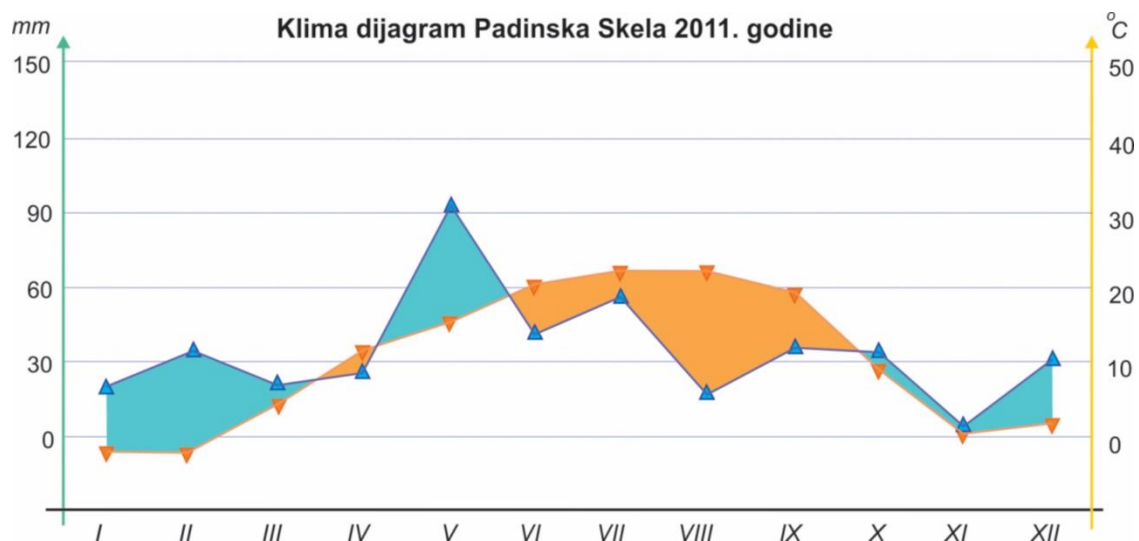
Klima Beograda je **umereno kontinentalna**, sa jesenjim periodom dužim od proleća, sa umerenim zimama i letom koje naglo dolazi. Klimatološki temperaturni i padavinski podaci za Beograd su 11,9 °C i 678 mm vodenog taloga na godišnjem nivou.



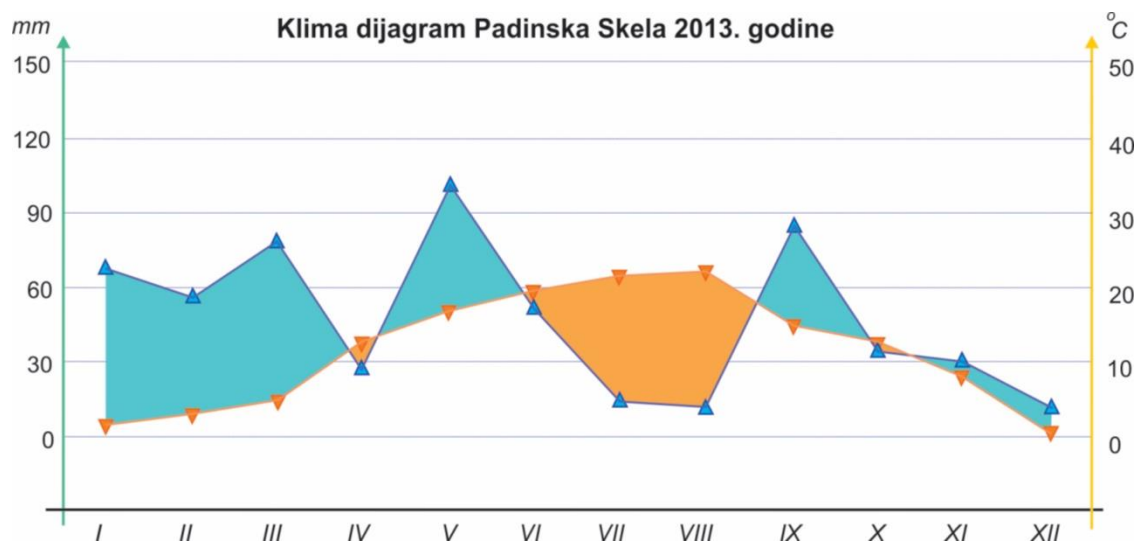
Klimatski podaci za Beograd ukazuju na relativno povoljne vremenske prilike za gajenje trešnje u prvoj polovini godine. Pojava suše u periodu diferenciranja začetak glavnih elemenata cveta (jul-septembar) u principu ne predstavlja problem, čemu u prilog govori i činjenica da je u regionu Beograda pojava plodova blizanaca tokom žarkih leta prisutna u tragovima, kao i da je vodeće i najranije proizvodno područje trešnje u Srbiji locirano upravo u okolini Beograda (opština Grocka), gde su godišnje količine padavina skoro dva puta manje od proseka za Beograd (Nikolić, 2008).



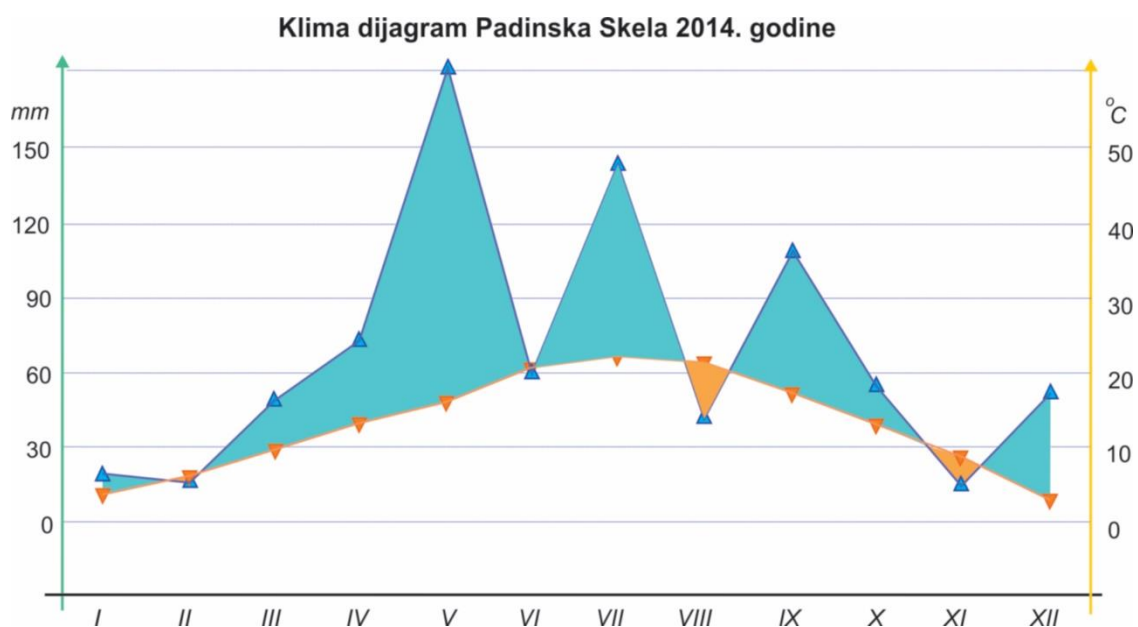
Kretanje vremenskih prilika na lokaciji oglada (Padinska Skela) u kontinuiranom višegodišnjem periodu (2006-2015) tokom kalendarske godine istakla je prisustvo dva perioda: period mart-maj obiluje padavinama koje su praćene intenzivnim vazдушnim strujanjima, dok period jun-septembar odlikuje izrazit nedostatak vlage praćen ekstremno visokim temperaturama vazduha. Iz navedenih razloga ekoklimatski prostor Pančevačkog rita više pogoduje razvoju ranih kultura, koje u ovakvom okruženju lakše podnose sušu pošto putem intenzivnije fotosintetske aktivnosti u prvom delu vegetacije mogu uspešno da prevaziđu period fiziološke inhibicije tokom leta.



Vremenske prilike na lokaciji oglada u godinama koje su prethodile početku ispitivanja u ovoj tezi ukazale su na pojavu još jednog sušnog perioda na samom početku vegetacije, kao i na prolongirani period izrazite suše u 2012., praćen umereno visokim srednjim dnevnim temperatura tokom letnjeg perioda u odnosu na višegodišnji prosek. Ipak, srednje godišnje temperature vazduha u ovim godinama bile su ispod višegodišnjeg proseka za Padinsku Skelu (12°C), dok je prosek padavina u obe godine bio za oko 50 mm vodenog taloga veći u odnosu na višegodišnji prosek (604 mm u periodu 1981-1990).

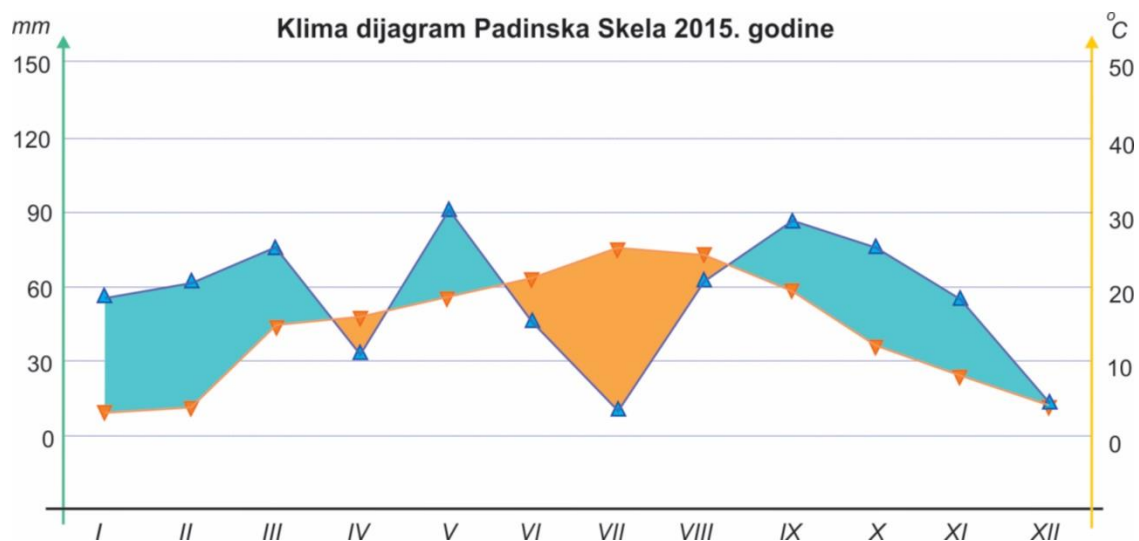


Tokom prve ogledne godine (2013) posmatrani meteorološki parametri su bili uravnoteženi, najpre u smislu prisustva veće količine padavina u dva pika (početak godine-mart mesec) i odsustva sušnog perioda u proleće, a potom nešto intenzivnije i kraće suše u letnjim mesecima (jul-avgust) u odnosu na prethodne dve godine. Na godišnjem nivou, prosečne vrednosti temperatura i padavina za 2013. godinu bile su neznatno ispod višegodišnjeg proseka.



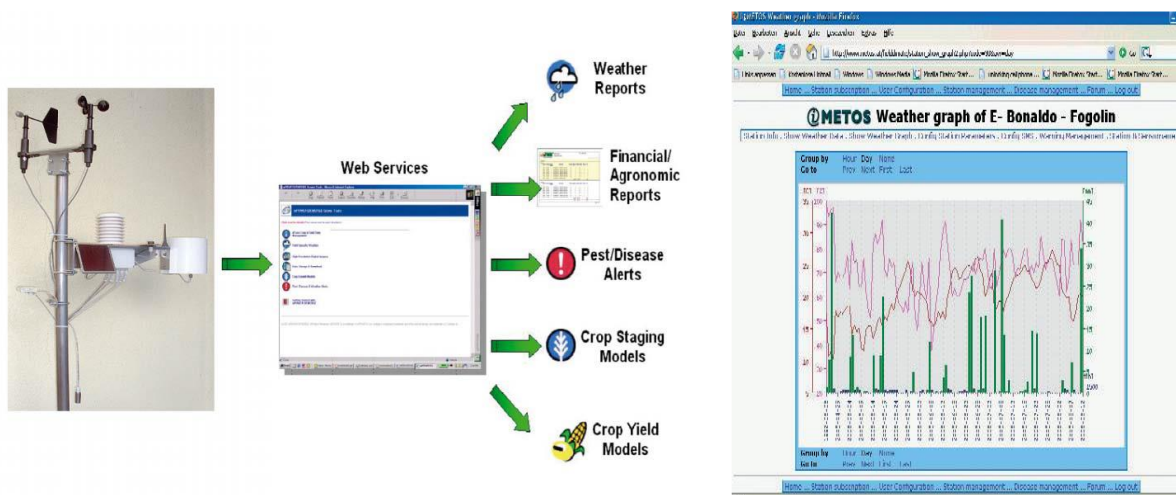
Vremenske prilike u drugoj oglednoj godini (2014) bile su dijametralno različite u odnosu na višegodišnji prosek i ostale ogledne godine. Temperature u nivou višegodišnjeg proseka (srednja godišnja 12,1° C) praćene velikom količinom padavina (većom za oko 250 mm vodenog stuba na godišnjem nivou i distribuirane u pikovima tokom aprila, juna i jula i u septembru), uzrokovale su razvoj patogeni u zasadima i propadanje znatne količine roda u trešnjnicima Srbije u odnosu na

ostale ogledne godine i višegodišnji proseki. U zasadima trešnje u kojima je lisna površina ostala sačuvana poput one u oglednom zasadu, vremenske prilike tokom vegetacije 2014. bile su povoljne za procese diferencijacije rodni pupoljaka.



Poslednja ogledna godina ponovo je donela uravnoteženje u pogledu padavina, koje su bile u saglasnosti sa desetogodišnjim prosekom za lokaciju ogleda (609 mm), dok je srednja godišnja temperatura bila u porastu (13,1° C). Uravnoteženost praćenih meteo-parametara bila je prisutna i tokom prvog dela vegetacije, gde je nešto duži period prevlaženosti u prvim mesecima godine bio neutralisan pojavom suše krajem marta-početkom aprila meseca.

Prikupljanje meteoroloških podataka obavljeno je sa automatskom meteorološkom stanicom "Fieldclimate" austrijske firme Pessl Instruments koja je postavljena u blizini oglednog zasada. U pitanju je ekološki monitoring sistem *Metos*[®] povezan sa inovativnom hardverskom platformom *iMetos*[®] koja automatizovano (u jednosatnim intervalima) prikuplja meteorološke podatke i softverski ih obrađuje kroz interfejs sisteme Html i Excel, s mogućnošću predviđanja uslova za razvoj određenih bolesti i pojave štetočina u voćnjacima, a sve u cilju njihovog blagovremenog suzbijanja. Sistem nudi i Web-monitoring nad vlažnošću zenljišta, vazduha i lišća, mogućnost upozorenja na moguću pojavu mrazova i praćenje (analizu) lokalnih mikroklimatskih uslova.



<http://www.metos.at/fieldclimate>

SI. 21-22. Elementi hardvera i softvera automatske meteorološke stanice Fieldclimate

6. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Rezultati istraživanja histološko-morfoloških promena na meristemskim vrhovima reproduktivnih tačaka rasta kod ispitivanih sorti trešnje, shodno toku i dinamici odvijanja samog procesa organogeneze, predstavljeni su u sledećem nizu:

6.1. Diferencijacija generativnih pupoljaka;

6.2. Mikrosporogeneza i formiranje polena;

6.3. Makrosporogeneza i embriogeneza;

6.4 Modeliranje ekoloških faktora.

6.1. Diferencijacija generativnih pupoljaka

Formiranje reproduktivnih organa kod voćaka osnovni je preduslov za njihovu rodnost. Kompletan tok diferencijacije začetaka cvetova u pupoljcima relativno je dug proces koji se proteže u dve vegetacije i nepovratnog je karaktera, počevši od trenutka kada meristem uđe u program generativne diferencijacije.

Zimski vegetativni pupoljci trešnje nastali su kao posledica završene prve etape organogeneze koja podrazumeva formiranje nediferenciranog konusa porasta, koji potom u drugoj etapi tokom vegetacije diferencira začetke nodusa, internodija i listova unutar svakog od vegetativnih pupoljaka. Ove novoformirane vegetativne tačke rasta postaju osnov daljeg toka organogeneze.

Dakle, nakon perioda mirovanja na histološkim presecima zimskih vegetativnih pupoljaka može se uočiti samo jedna vegetativna kupa (apeks). Po kretanju vegetacije daljom diferencijacijom ćelija u pomenutom meristemu formiraće se mladar. Vegetativni pupoljci trešnje, u zavisnosti od toka i dinamike njihovog rasta tokom vegetacije, formiraće priraste različite dužine pa shodno tome možemo razlikovati i različite kategorije rodni grančica. *Kratke rodne grančice (majske kitice)* imaju najkraći period porasta i na sebi nose uglavnom jedan vegetativni pupoljak na vrhu, i bočno pozicionirane rodne pupoljke. *Duge (vite) rodne grančice* obično dostižu rast od 10 do 25 nodusa i imaju jasno razgraničenu vegetativnu (vršnu) i generativnu (baznu) zonu, u kojima su prisutni vegetativni i generativni meristemi. Identičnu situaciju zatičemo i kod *kratkih rodni grančica*, koje su manje dužine od vitih ali su pomenute zone, shodno programu diferencijacije meristema, podjednako iste i jasno su razdvojene. Prirasti sa dužim periodom rasta i većim brojem nodusa

uglavnom nose dominantno zastupljene pojedinačne vegetativne pupoljke koji su pozicionirani su u gornjoj polovini prirasta, dok su na nodusima pri osnovi prisutni pojedinačni cvetni pupoljci. Izuzetak predstavljaju tzv. *duge rodne grane* dužine preko 40 cm koje usled izražene snage rasta na nodusima u baznom delu grane obrazuju cvetne pupoljke u kolateralnom rasporedu. Ovakvo rodno drvo susreće se u intenzivnim sistemima gajenja trešnje, kod formi sa plodonosnim zidom koje naročito indukuju njihov razvoj (Mičić i Đurić, 2020).

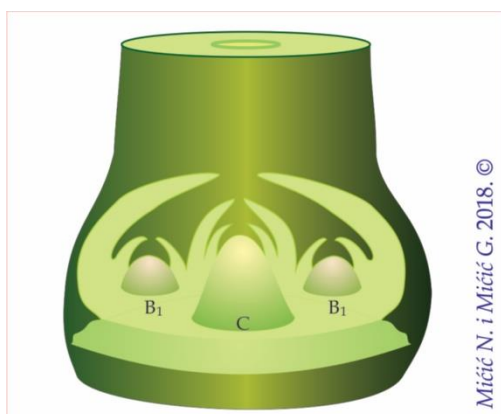


Sl. 23. *Poprečni presek pupoljka mladara u generativnom programu diferencijacije kod sorte Burlat*

Proces diferencijacije primordija organa cvetnih začetaka trešnje u celom svom toku (u vegetaciji), tj. od prvih histo-morfoloških promena na meristemskom vrhu pupoljka mladara do formiranja generativnih pupoljaka na nodusima letorasta koji ulaze u zimsko mirovanje, odvija se sukcesivno i po identičnoj šemi organogeneze koja je prisutna kod ostalih vrsta iz roda *Prunus*, a konstatovane su i kod ispitivanih sorti u ogledu. Uvidom u mikrofotografije histoloških preparata pomenutih procesa, mogu se konstatovati sledeće mikrofenofaze:

- Diferencijaciju vegetativne kupe (apeksa) zimskog pupoljka u proleće prate intenzivni mitotički procesi, inicijacija porasta pa potom i razrastanje mladara. Na nodusima u pazusima listova svih kategorija mladara formiraju se vegetacione kupe koje svojom aktivnošću u toku vegetacije stvaraju pupoljke na novoformiranim grančicama za ulazak u period mirovanja (Sl. 24.). Na svakom nodusu, odnosno u pazuhu svakog lista inicijalno se formiraju po tri vegetacione kupe: C – centralna; B₁ i B₂ – bočne vegetacione kupe. Rast i razvoj ovih vegetacionih kupa determinisan je njihovim položajem, i to tako da, centralna vegetaciona kupa (C) može da diferencira i u

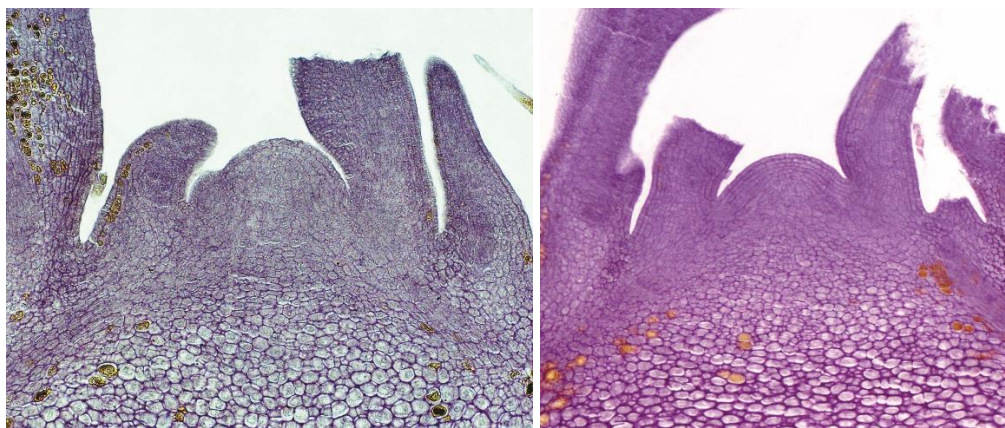
vegetativni i u generativni pupoljak na određenim pozicijama, dok bočne vegetacione kupe (B_1 i B_2) mogu da diferenciraju samo u cvetne pupoljke ili će u različitim fazama razvoja atrofirati, ali ove vegetacione kupe u normalnom rastu i razviću nikada ne zadržavaju vegetativni karakter. U drugom delu vegetacije, u pomenutim pupoljcima sa generativnim programom diferencijacije sledi sukcesivno diferenciranje, najpre primordija nabora primarnih pokrovnih listića, a potom i formiranje vidljivih meristemskih zona u njihovom pazuhu, što u konačnom raspletu dovodi do formiranja primordija cvetova raspoređenih u buduću cvast (III do V etapa organogeneze). Histološka analiza vegetativnih kupa u okviru koletaralnih pupoljaka sve do trenutka otpočinjanja generativne faze diferencijacije u pojedinim bočnim pupoljcima kod predstavnika rod *Prunus* ne pokazuje nikakvu suštinsku strukturnu razliku među njima koja bi ukazivala na njihovu eventualnu predodređenost ka jednom ili drugom programu diferencijacije.



Sl. 24. *Formirane vegetativne kupe na nodusima, u pazuhu listov mladara kod trešnje: C-centralna, koja može ići u pravcu generativne ili vegetativne diferencijacije; B1 i B2-bočne vegetacione kupe koje se diferenciraju samo u cvetne pupoljke ili atrofiraju.*

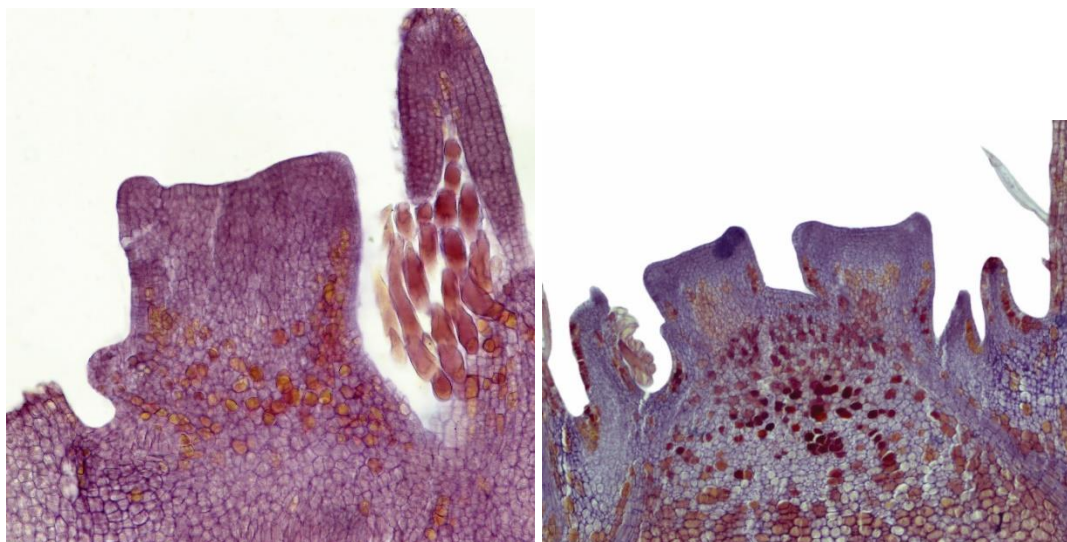
Ipak, bočne vegetativne kupe, u slučaju trešnje smeštene u bazalnoj zoni začetka osovine cvasti, u daljem procesu diferencijacije isključivo slede dalji tok organogeneze, u smislu diferencijacije u generativni pupoljak ili pak atrofiraju (Mičić i Đurić 1995 a);

- *Programna faza* promene karaktera određenog broja meristema na bočnim pozicijama u kolateralnom pupoljku nodusa mladara od vegetativne ka generativnoj fazi diferencijacije (početak diferencijacije generativnih pupoljaka, III etapa organogeneze) praćena je morfološkim promenama u smislu izraženog narastanja meristemskog vrha, koji se potom proširuje u osnovi (Sl. 25–27.);
- Dalje anatomsko-morfološke promene na meristemskom konusu podrazumevaju diferenciranje osovine cvasti (morfološki u tipu štita) i cvetova, i naknadno formiranje inicijalnog udubljenja na zaravnjenom vrhu osovine cveta što predstavlja IV i početak V etape ciklusa organogeneze, po redu (Sl. 29–30.). Mikrofotografija preseka cvasti bočnog kolateralnog pupoljka kod sorte Droganova žuta jasno pokazuje kako su pomenute etape u procesu organogeneze kod cvetnih pupoljaka na ovom strukturnom nivou relativno sinhronizovane.



Sl. 25-27. *Početak Programne faze na meristemskim vrhovima ukazuje na nastupanje generativnog karaktera diferencijacije kod sorti Burlat, Stela i Droganova žuta, po redu: nakon diferenciranih sopstvenih pokrovnih listića sledi izdizanje meristemskog vrha a potom i njegovo proširenje u osnovi. Intenzivna obojenost ćelija meristemskih vrhova pokazatelji su intenzivnih deoba i snažnog razrastanja apikalnih meristema.*

- Tokom daljeg razvoja V etape organogeneze dolazi do izdizanja primordija čašičnih listića a potom i primordija kruničnih listića u vidu pet nabora kružno raspoređenih u unutrašnjem delu zida cvetne lože, neposredno ispod začetaka čašičnih listića (Sl. 30-32.)



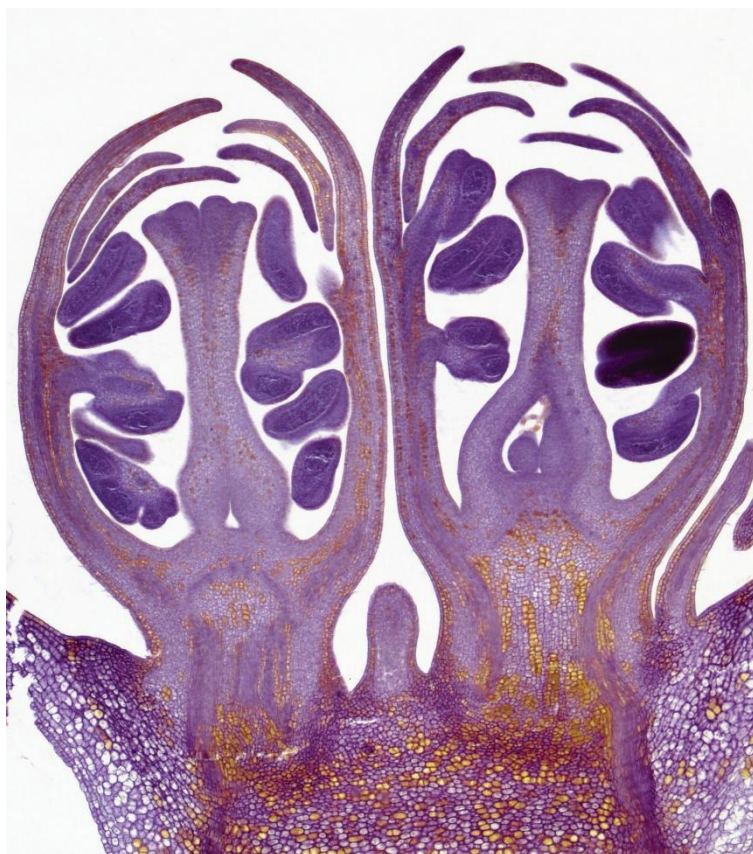
Sl. 28-29. *Detalji diferenciranja osovine cveta kod sorti Stela i Droganova žuta, po redu: pojava ugnutog vrha razrasle osovine cveta najava je daljeg toka organogeneze, u pravcu pojave nabora (primordija) čašičnih listića po obodu meristema osovina cvetova.*



Sl. 30-32. *Pojava primordija kruničnih listića u vidu nabora neposredno ispod začetaka čašičnih listića u bočnim pupoljcima generativnog programa diferencijacije kod sorti Burlat, Stela i Droganova žuta, po redu: intenzivna obojenost ćelija u začecima perijanta i dalje su pokazatelj intenzivnih procesa deobe i razrastanja. Sinhronizovnost odvijanja prisutnih etapa organogeneze na nivou pupoljka i dalje je prisutna.*

- Dalji tok V etape organogeneze (V-d podetapa) realizuje se pojavom začetaka antera na zidu udubljenja cvetne lože (gornji niz primordija) u kolateralnom rasporedu, neposredno ispod primordija kruničnih listića. Meristemski nabori primordija antera u daljem procesu diferencijacije ćelija u pupoljku pojavljuju se i u drugom prstenu (donji niz primordija) sa po deset nabora, lociranih neposredno ispod gornjeg niza kvržica primordija antera. Istovremeno sa završenim procesom diferencijacije prvog i drugog prstena začetaka antera, na dnu cvetne lože formira se zaravnjeno proširenje, koje potom prerasta u poluprstenasti nabor, što je zapravo prva vidljiva

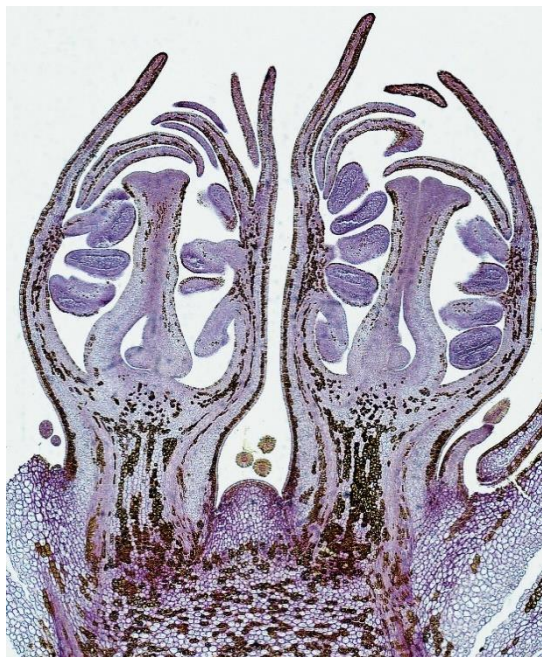
pojava začetka karpela (V-e podetapa). Sledi zatim izdizanje centralnog dela poluprstenstog nabora do nivoa gornjeg niza primordija antera, pa potom i do osnove kruničnih listića, u trenutku razrastanja svih primordija organa cveta. Sam kraj V etape organogeneze obeležen je pojavom poluantera i budućih lokula antera u vidu dva uzdužna polunabora, dok karpela srasta, sa rubovima povijenim ka unutrašnjosti koji će se u jednom trenutku dodirivati celom dužinom (Sl. 33.). Karpela poseduje elementarnu formu tučka sa manjim proširenjem u osnovi (budući plodnik) u kojem se može nazreti kvržica—inicijalni začetak semenog zametka, uz prisutne primordijalne začetke tkiva stubića i žiga.



Sl. 33. *Histološki presek rodnog pupoljka na nodusu mladara sorte Droganova žuta: uzdužni polunabori u primordijama antera nagoveštaj su budućih lokula. Dobro obojene zone u anterama pokazatelj su intenzivnih deobnih procesa, dok je u plodniku tek u toku formiranje začetka semenog zametka u vidu primarne loptaste kvržice nucelusa (desno).*

- Ulazak rodnih pupoljaka u zimsko mirovanje obeleženo je V-f podetapom koja podrazumeva rast i razvitak formiranih primordija organa cveta do postizanja odgovarajućeg stepena diferenciranosti, neophodnog za normalan prolazak pupoljaka kroz period zimskog mirovanja (Sl. 34-36.). To podrazumeva da začeci čašičnih i kruničnih listića u potpunosti prekrivaju unutrašnjost cveta, da se na histološkim presecima primordija antera uočavaju uzdužni polunabori (buduće lokule antera), dok se u njihovoj unutrašnjosti još uvek ne razaznaju vidljive razlike u građi ćelija od kojih će nastati arhesporijalno tkivo i tkivo zida antere. Začeci karpela izrasli su do gornjeg ruba cvetne lože i još uvek nije došlo do potpunog srastanja rubova karpela na mestima njihovog dodira. U karpelama se uočavaju samo zone budućeg plodnika a razlike u građi i obojenosti zona stilusa i stigme nisu приметne.

Dakle, svi oni začeci cvetova kod kojih primordije perijanta nisu u potpunosti zatvorile otvore cvetne lože teško će preživeti niske temperature tokom perioda zimskog mirovanja, ili će ispoljavati teratološke poremećaje tokom prolećnog nastavka organogeneze, u procesima morfogeneze, odnosno mikro- i makro sporo- i gametogeneze, dajući nekvalitetne cvetove.



Sl. 34-36. *Histološki preseći začetaka cvetova različitog stepena diferenciranosti kod sorti Burlat, Stela i Droganova žuta (po redu) neosredno pred ulazak u period zimskog mirovanja: mikrofotografije nagoveštavaju proandrični tip diferencijacije muških i ženskih elemenata cveta kod ispitivanih sorti trešanja, s obzirom na diferenciranost tkiva antera koja su spremna za ulazak u mejotičku deobu, dok se u plodniku tek formirao inicijalni začetak semenog zametka.*

6.2. Mikrosporogeneza i formiranje polena

Nastavak organogeneze u smislu početka i toka VI (mikrosporogeneza) i VII etape (makrosporogeneza) sledi rano u proleće, nakon mirovanja voćaka. Tokom zimskog mirovanja u cvetnim začecima ispitivanih sorti trešnje nisu primećene vidne promene u histološkoj građi tkiva i ćelija koje bi ukazivale na dalje procese diferencijacije u sporofilima (začecima prašnika i karpela).

Mikrosporofili (začeci prašnika) nose mikrosporangije (polenove kese) čija je funkcija produkcija mikrospora i dalje polenovih zrna. Mikrosporangije se sastoje od sporogenog tkiva smeštenog u lokulama antera koje je okruženo specijalnim perifernim slojevima ćelija tapetuma, ontogenetski povezanih s njima. Razvoj antera na prašničkim nitima (filamentima) i njihova završna struktura određena je razvojem mikrosporangija (prašničkih kesa) i naknadnim razvojem sporofila do polena.

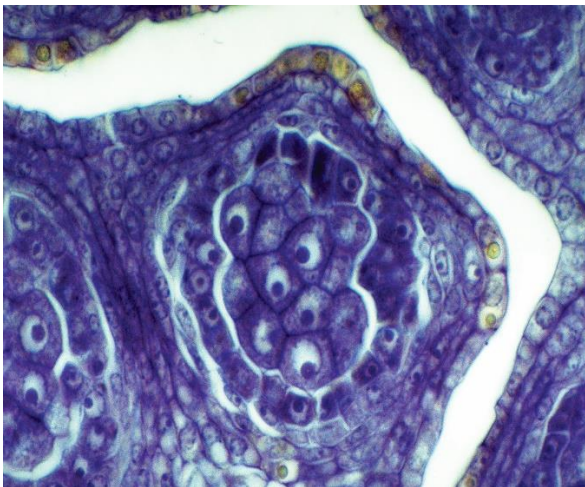
Tokom zimskog mirovanja začeci antera imaju jasno izdiferencirane poluantere na kojima se razlikuju dva izražena uzdužna nabora budućih lokula antere, dok primordija filameta ima formu kratke drške kojim vezuju začetke antera za zid cvetne lože. Početak kretanja vegetacije i otpočinjanje mikrosporogeneze, koju odlikuju intenzivni procesi diferencijacije ćelija u buduća tkiva u lokulama antera određen je prethodnim fazama morfogeneze pupoljaka, karakterom dubokog mirovanja voćke, ali i tipom rodne grančice. Ekološko zimsko mirovanje, koje je vezano za završetak zime i početak vegetacije (februar–mart) naročito je osetljiv period za rane vrste voćaka kakvi su predstavnici roda *Prunus* jer smena visokih i niskih temperatura u okviru dana ili jednog kraćeg vremenskog intervala mogu isprovocirati pokretanje njihovih cvetnih pupoljaka a potom i njihovo stradanje od poznih mrazeva. Osetljivost cvetnih pupoljaka prema niskim temperaturama u ovom periodu često zavisi od stepena njihove diferenciranosti. Najveću osetljivost ovi pupoljci pokazuju prilikom izlaska iz zimskog mirovanja (veći stepen diferencijacije ćelija arhesporijuma u prašnicima čini ih osetljivijim na mrazeve) i u procesu mikrosporogeneze, od redukcione deobe do obrazovanja polena. Prethodna istraživanja ovih procesa kod šljive pokazala su kako veću otpornost prema izmrzavanju imaju cvetni pupoljci sa sporijim tokom mikrosporogeneze (Kapetanović i sar., 1970).

Proučavanje procesa diferencijacije tkiva antere i procesa mejotičke deobe u mikrosporogenezi kod ispitivanih sorti trešnje u agroekološkim uslovima Pančevačkog rita (2013–2015) pokazalo je da su se osnovne podetape ovog procesa kod tri sorte odvijale po istoj matrici organogeneze, s tim što su pojedine faze u godišnjim ciklusima posmatranih sorti otpočinjale u različito vreme i trajale različito.

Tokom praćenja toka mikrosporogeneze i mejotičke deobe putem mikroskopskog posmatranja trajnih mikroskopskih preparata generativnih pupoljaka trešnje konstatovani su sl. procesi:

- U centrima budućih lokula primordija antere zapaža se snažno uvećanje ćelija budućeg sporogenog tkiva, arhesporijuma (buduće materinske ćelije polena), koje se uskoro vrlo jasno razlikuju od sitnijih ćelija zida antere koje ih okružuju. Na mikrofotografijama (Sl. 37–39.) se jasno

razlikuje dva do tri sloja ćelija u tkivu zida antere, koji na poprečnom preseku imaju pravougaonu formu, za razliku od ćelija sporogenog tkiva koje su poligonalnog oblika, međusobno su čvrsto pribijene i sa istaknutim jedrom. Dalji tok diferencijacije dva osnovna tkiva antere teče u odvojenim pravcima koji su u potpunosti međusobno sinhronizovani u pojedinim fazama mikrosporogeneze.



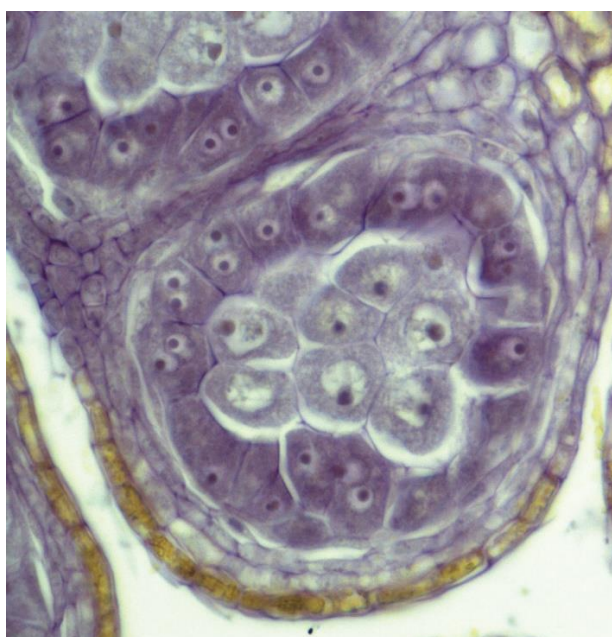
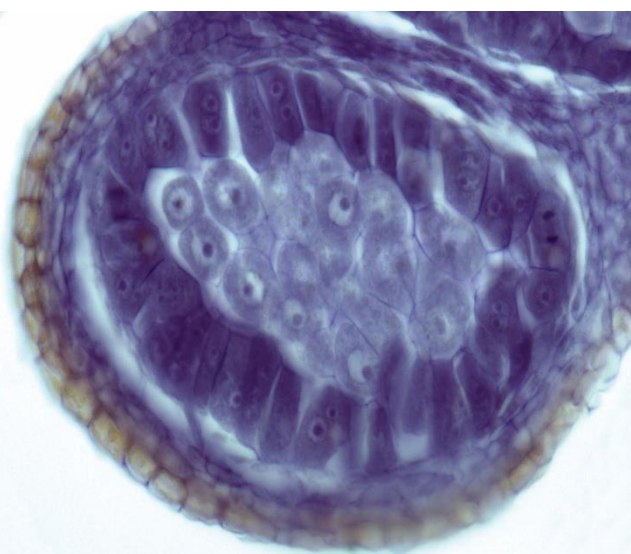
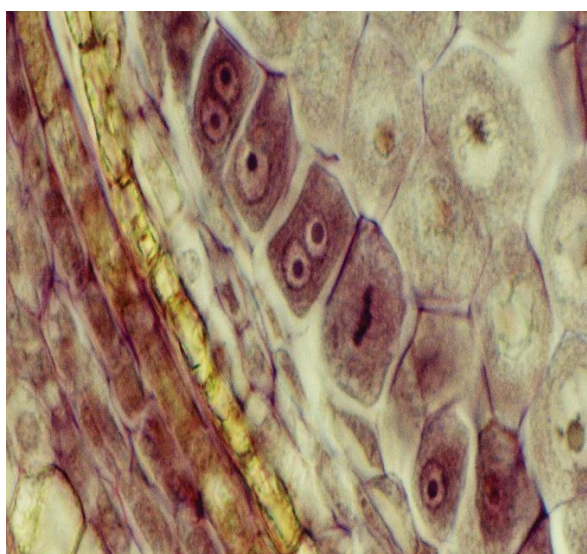
Sl. 37–39. *Poprečni preseki primordija antera početkom vegetacije kod sorti Burlat, Stela i Droganova žuta, po redu: pojava budućih lokula antera u kojima se jasno diferenciraju krupne ćelije sporogenog tkiva koje su okružene sitnijim i izduženim ćelijama zidova antere (unutrašnji sloj zida) i jednog (spoljašnjeg) sloja ćelija na samoj periferiji antera.*



- Dalja diferencijacija ćelija u okviru tkiva zida antere dovodi do formiranja spoljašnjeg i unutrašnjeg sloja ćelija, od kojih će se ovaj poslednji dodatno diferencirati u tkivo koje će u kasnijim podetapama mikrosporogeneze služiti za ishranu mladih polenovih zrna. Dakle, na ovom

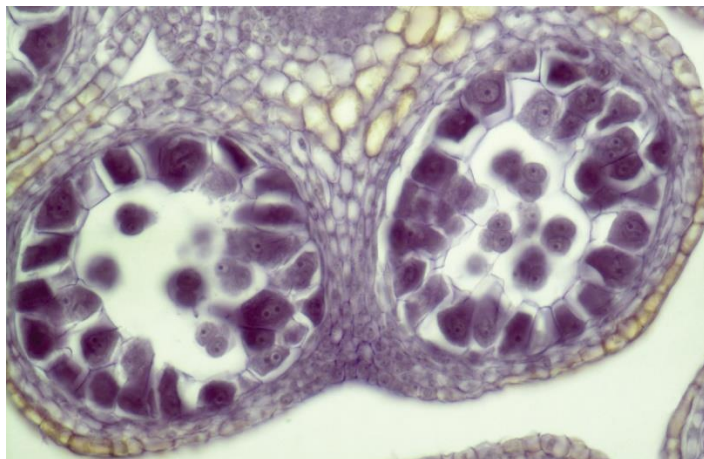
nivou diferenciranosti ćelija zida antera možemo razlikovati na površini jednoslojni *egzotecijum*, zatim 2–3 sloja ćelija koje sačinjavaju *međusloj*, a jasno se razlikuju po manjim jedrima od novonarastajućeg tkiva *tapetuma* koje neposredno okružuje sporogeno tkivo antera. Usled nejednakog rasta ćelija tapetuma i međusloja, oni se razdvajaju (Sl. 40–42.), a potom sledi resorpcija prvog niza ćelija u međusloju koja je praćena istovremenim početkom procesa endomitoze u ćelijama tapetuma. Pomenuti proces postaje primarni u daljem toku mikrosporogeneze u anteri.

- Tapetum je sačinjen od krupnih ćelija sa obilnim protoplazmatičnim sadržajem koje bivaju izloženi najpre prvoj a potom i drugoj endomitotičnoj deobi, čime dobijaju višejedarni status (Sl. 40–42.).

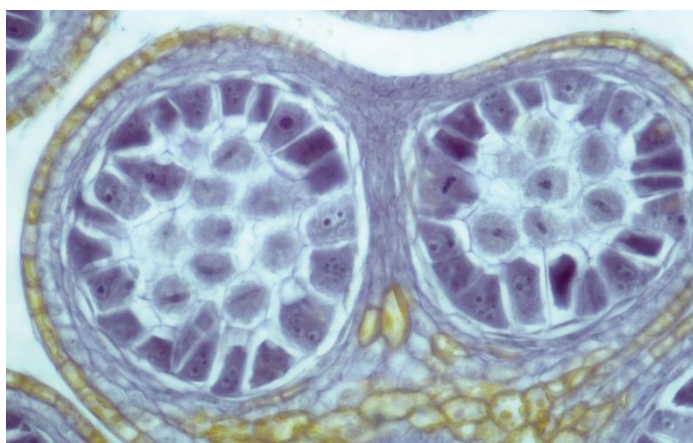


Sl. 40–42. Diferenciranje osnovnih tkiva u lokuli antera sorti Burlat, Stela i Droganov žuta, po redu: na mikrofotografijama se jasno uočavaju zone odvajanja ćelija međusloja i tapetuma, kao i završetak prve endomitoze u ćelijama tapetuma. Odlična obojenost citoplazme ćelija tapetuma svedoči o intenzivnim procesima deobe u njima.

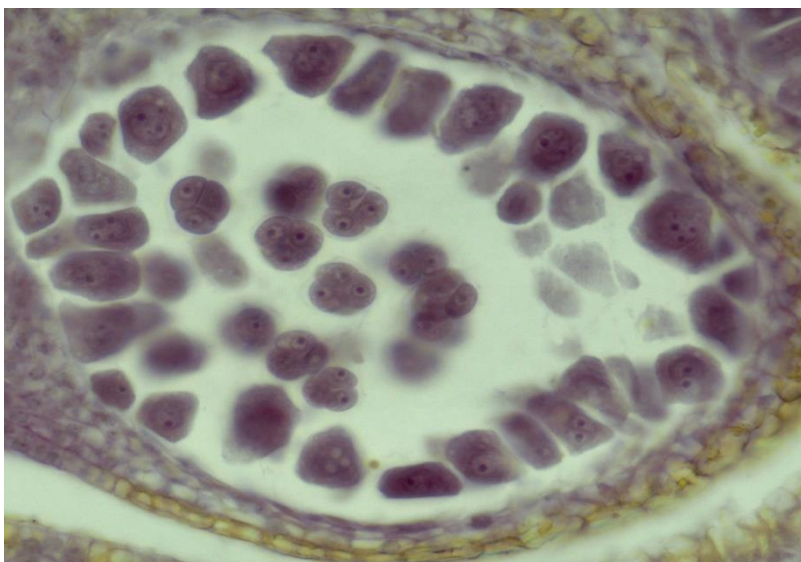
- Čelije arhsporijuma (primarnog sporogenog tkiva) nakon niza deoba obrazuju grupu ćelija koje predstavljaju materinske ćelije polena, a odlikuju se intenzivnim rastom i većom krupnoćom, gustom protoplazmom i krupnim jedrom u kome je prisutno jedarce koje se intenzivno boji baznim bojama. Tokom druge endomitotičke materinske ćelije polena prolaze kroz profazu I prve redukcijske deobe, dok se u ćelijama tapetuma formiraju krupne vakuole koje su pozicionirane prema materinskim ćelijama polena, potpuno ih odvajajući od ostalih tkiva zida antere.



Sl. 43–44. Prikaz toka simultane tipa mejozičke deobe u materinskim ćelijama polena sorti Burlat i Stela: u pojedinim ćelijama je završena prva kariokineza, dok su u drugim vidljive niti deobnih vretena (anafaza I), koju međutim ne prati citokineza. Ovo svedoči o postojanju simultane tipa mejozičke deobe kod ispitivanih sorti trešnje.

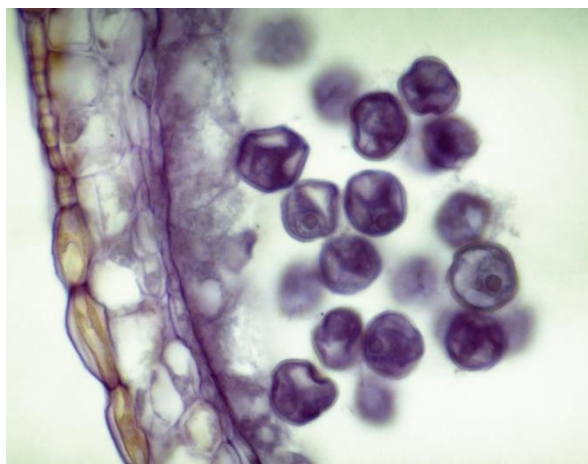


- Dalji tok mikrosporogeneze podrazumeva četvororednu fazu u ćelijama tapetuma, radijalno izduživanje ćelija egzotecijuma i resorbovanje tkiva međusloja (Sl. 43–44.), dok u materinskim ćelijama polena dolazi do isčezavanja jedra i jedaraca što ukazuje na početak druge kariokineze u simultanoj mejozičkoj deobi. Tek po isčezavanju deobnih vretena i formiranju četiri jedra dolazi do invaginacije spoljne membrane majke ćelije, što nagoveštava početak citokineze i formiranje mikrosporocita obavijenih zajedničkom kaloznom opnom, koje imaju tetraedarni raspored (ćelije tetrade). U početku ćelije tetrade ostaju još izvesno vreme slepljene jedna za drugu i obavijene opnom materinske ćelije, da bi po dobijanju celulozne opne svake od četiri ćelije došlo do raspadanja tetrade i izdvajanja mikrospora iz njih. Istovremeno sa ovim procesom nastavljen je i razgradnja sloja tapetuma, gde njegove ćelije izlivaju protoplazmastični sadržaj u lokulu (*sekretorni tip tapetuma*). Ovaj sadržaj će poslužiti kao hrana novoformiranim mikrosporima (Sl. 45.).



Sl. 45. Materinske ćelije polena sorte Drojanova žuta nakon završene druge kariokineze: na snimku se jasno uočava početak razgradnje sloja tapetuma u trenutku postojanja tetrada. U zavisnosti od položaja mikrosporocita prema izvoru svetla mikroskopa i niskoj dubinskoj ošttrini, najčešće se uočavaju tri ćelije u njihovom tetraedarnom rasporedu.

- Oslobođene mikropore su jednoćelijske konstitucije i one će sačekati potpunu resorpciju ćelija tapetuma, koja će ubrzo uslediti. Mlada polenova zrna se dobijaju mitotičkom deobom jedra mikropore na dva jedra nakon čega sledi i citokineza u procesu mikrogametogeneze. Dobijene dve ćelije nejednake su i po veličini i po svojoj fiziološkoj funkciji: krupnija vegetativna ćelija više se ne deli i ima fiziološku funkciju dok manja generativna ćelija predstavlja nosioca naslednog materijala. Zrelo polenovo zrno u ovakvom dvoćelijskom obliku napušta anteru. Polenovo zrno u suvom stanju je oblikovano kao rotacioni elipsoid, sa tri uzdužne brazde (trikolpatni tip polena) na spoljašnjem omotaču polena (egzini) koje se javljaju tokom deobe jedra mikropore u procesu sazrevanja sporofita. Na uzdužnim brazdama se formiraju pore (kolpe). Oblik polenovih zrna je izopolaran i radijalno simetričan: u ekvatorijalnoj ravni polenova zrna su eliptičnog, a u polarnoj okruglog oblika (Radičević, 2013). Polenovo zrno poseduje i tanku, unutrašnju celuloznu opnu (intinu) koja se potpuno povlači u unutrašnjost polenovog zrna, čime se polen štiti od uticaja spoljne sredine u vreme raznošenja i polinacije. Zrela polenova zrna u suvom i hidratisanom stanju imaju stalnu formu, što predstavlja vrlo stabilnu (konzervativnu) osobinu vrste (Sl. 46.).



Sl. 46. Mlada polenova zrna sorte Droganova žuta: na snimku se jasno uočava kako je proces sazrevanja mikrosporocita u toku, dok se kod već formiranih mladih polenovih zrna jasno prepoznaju kolpe (brazde za klijanje) u simetričnom rasporedu.

6.2.1. Ispitivanje klijavosti polena

Uspešno oprašivanje temelj je uspešne oplodnje i visoke rodnosti kod trešnje. Trešnja je u osnovi pretežno autoinkompatibilna vrsta pa je za uspešnu oplodnju potrebna kvalitetna sortna kompozicija, koja podrazumeva adekvatno preklapanje u vremenu cvetanja sa glavnom sortom, i produkciju vitalnog i kompatibilnog polena. Varijabilnost kvaliteta i klijavosti polenovih zrna kod trešnje je vrlo česta pojava, i između ostalog određena je i pravilnošću odvijanja samog procesa mikrosporogeneze.

U sprovedenim istraživanjima utvrđena je *in vitro* klijavost polenovih zrna kao mera pravilnosti toka mikrosporo- i gametogeneze u lokulama antera ispitivanih sorti. Dobijeni su sl. rezultati (**Tab. 1.**):

Tab. 1. Klijavost polena kod sorti Burlat, Stela i Droganova žuta (2013-2015.)

Sorte / godine	2013.	2014.	2015.	Prosek za sortu
	% $\pm$ s%	% $\pm$ s%	% $\pm$ s%	
Burlat	36,22 $\pm$	31,56 $\pm$	44,78 $\pm$	37,52 $\pm$
Stela	50,63 $\pm$	38,51 $\pm$	48,12 $\pm$	45,75 $\pm$
Droganova žuta	47,33 $\pm$	29,08 $\pm$	52,41 $\pm$	42,94 $\pm$
Prosek po godinama	44,73 $\pm$	33,05 $\pm$	48,44	42,07

Prosečna vrednost klijavosti polena kod ispitivanih sorti u *in vitro* uslovima tokom trogodišnjeg perioda ispitivanja bila je relativno visoka (preko 42 %), ali je klijavost dosta varirala kada se posmatraju osnovni faktori varijabilnosti (sorte i godine), kao i njihova interkcija. Generalno, samooplodna sorta Stela pokazala je najbolju klijavost u dve od tri ogledne godine, dok je potpuno suprotno ponašanje zabeleženo kod sorte Burlat. S druge strane, očigledno je bilo da su

agroekološki uslovi Padinske Skele u 2015. godini bili najpovoljniji za odvijanje mikrosporogeneze, kao što je početak 2014. godine bio najlošiji sa stanovišta toka organogeneze muškog sporofila kod ispitivanih sorti.

6.3. Makrosporogeneza i embriogeneza trešnje

Proces makrosporogeneze, koja obuhvata VII etapu organogeneze odvija se u plodniku tučka, u kojem su smešteni semeni zameci (makrosporangije). Početni tok ove etape teče paralelno sa završnim fazama mikrosporogeneze: tokom Profaze I u unutrašnjosti plodnika, na samim rubovima krajeva karpelnog listića uočena meristemska aktivnost dovodi do stvaranja kvržičastih izraštaja nediferenciranih meristema semenih zametaka. U vreme prve i druge kariokineze u mikrosporogenezi ovaj nediferencirani meristem dobija loptastu formu (kvržice pronucelarnog tkiva), a u vreme pojave tetrada u mikrosporogenezi dolazi do pojave nabora začetaka integumenata. Tokom formiranja mladog polena na začecima semenih zametaka razlikuju se kompletno inicijalna tkiva: loptasta kvržica srednjeg proširenog dela semenog zametka (nucelus), prstenasti nabor koji do pola okružuje loptastu kvržicu meristema nucelusa (inicijalno tkivo integumenta) i skraćeno tkivo drške (inicijalno tkivo funukulusa) kojim su tkiva nucelusa i integumenata vezani za rub karpele u formi rubne placentacije. Stoga je opravdano potvrditi postojanje proandričnog tipa razvoja generativnih organa kod trešnje, kao i kod ostalih predstavnika roda *Prunus*, ali i odvojeno posmatranje ovog procesa od mikrosporogeneze u formi nove, VII etape organogeneze. U trenutku pojave pomenutih elemenata u semenom zametku pupoljci se nalaze u stanju tzv. zelene glavice, sa vršno razmaknutim pokrovnim listićima, što upućuje na još jednu razliku između mikrosporogeneze (odvija se u zatvorenim pupoljcima) i makrosporogeneze (odvija se u pupoljcima u otvaranju do otvorenih pupoljaka). Od trenutka pojave diferenciranih začetaka delova nucelusa i integumenata, u unutrašnjosti nucelnog tkiva započinje sam proces makrosporogeneze.

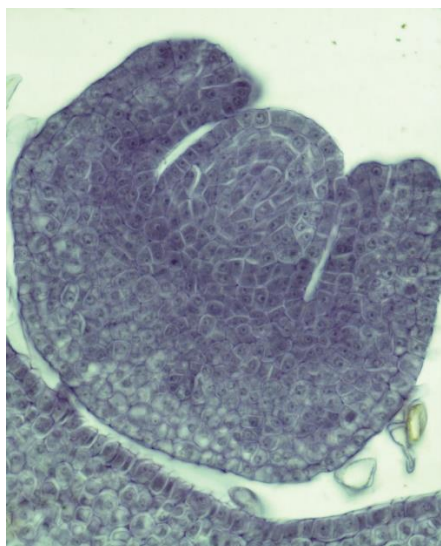
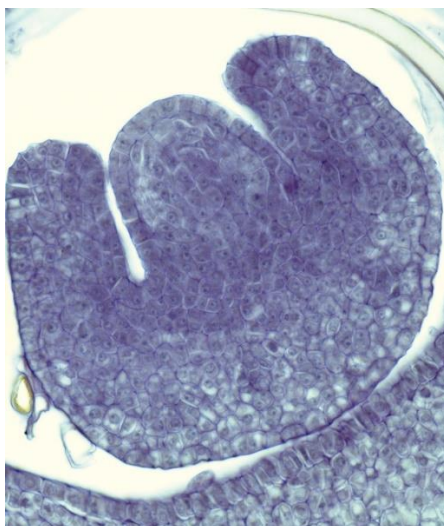
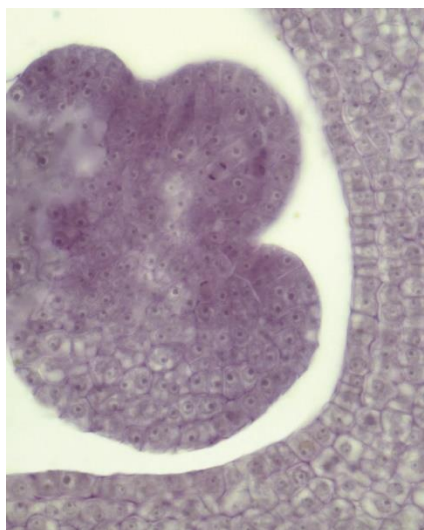
Kao relativno pouzdan mikrofenološki pokazatelj razvoja procesa makrosporogeneze i makrogametogeneze praćenih pod binokularom jeste *razvijenost integumenata*, tj. u kojoj meri oni okružuju nucelus (Sl. 49–51.). Pojava arhesporijalne ćelije makrospore u subepidermalnom tkivu nucelusa vezana je za trenutak kada je tkivo integumenata do polovine prekrilo nucelus; I mejotička deoba makrosporogeneze je završena kada integumenti okružuju $\frac{3}{4}$ nucelusa, a formiranje makrospora je završeno u trenutku kada integumenti gotovo u potpunosti prekrivaju tkivo nucelusa, kada i otpočinje formiranje mikropile u cvetnim začecima šljive (Mičić, 1992a).

Uvidom u mikrofotografije pomenutih procesa razvoja nucelnog tkiva i formiranja mikrospora kod tri ispitivane sorte trešnje mogu se konstatovati sl. mikrofenofaze:



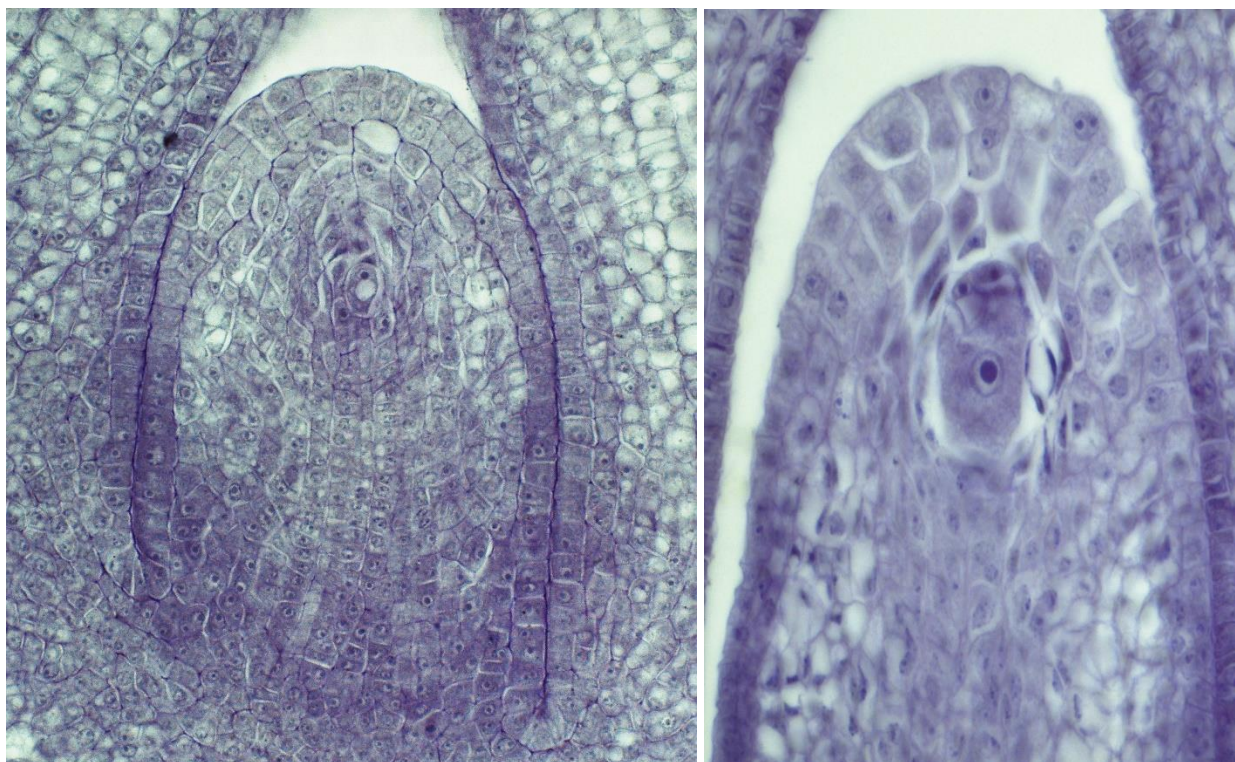
Sl. 47. Formiranje inicijalnog začetka semenog zametka kod sorte Burlat (VIIa podetapa organgeneze), paralelno je praćena sa mejotičkim deobama u lokulama antera cvetnog pupoljka posmatranog pod binokularom.

- Pojava nabora na bokovima nucelusa (Sl. 48–50.) koji se razrastanjem razvijaju u dva omotača (integumenta) javlja se inicijalno u osnovi samog nucelusa (halazni pol), da bi kasnijim razrastanjem u pravcu halaze nucelus dobio uspravan položaj, sa polovima (mikropilarnim i halaznim) u pravoj liniji (anotropni tip semenog zametka). U krajnjoj fazi razvoja integumenti gotovo sa svih strana okružuju nucelus, a jedino na mikropilarnom polu omotači ne srašćuju potpuno, već između njih zaostaje otvor–mikropila (VII b podetapa organogeneze).



Sl. 48–50. Diferenciranje nucelusa i integumenata u cvetnim pupoljcima sorti Burlat, Stela i Droganova žuta, po redu: razvijenost integumenata trebalo bi da koincidira sa pojavom arhesporijalne ćelije makrospore (Burlat), i završenom I mejotičkom deobom (Stela i Droganova žuta).

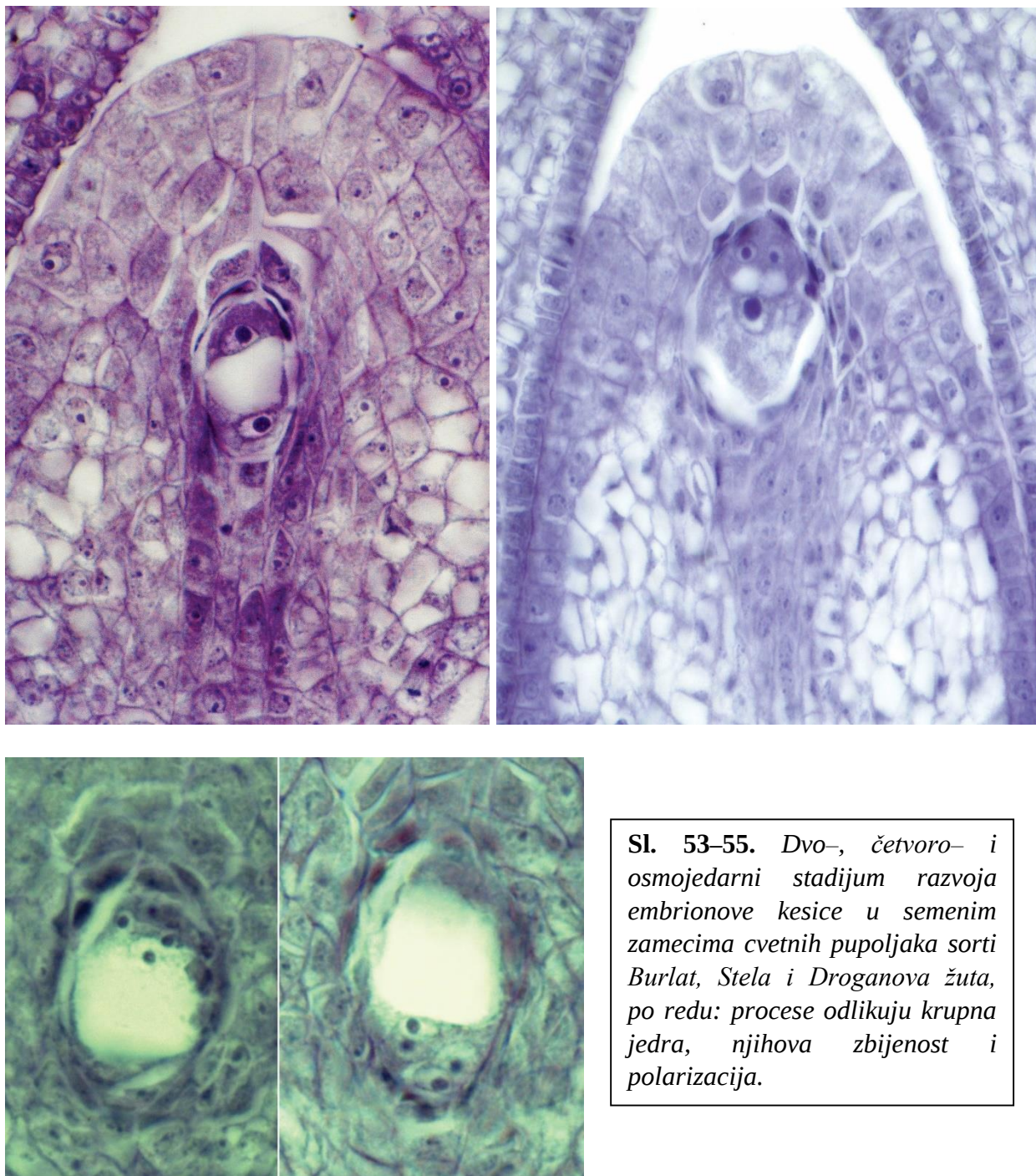
- Početak makrosporogeneze označen je izdvajanjem jednoćelijskog arhesporijuma iz subepidermalnog tkiva nuclusa, koji predstavlja tzv. *materinsku ćeliju makrospore*. Ona je veća od ostalih ćelija, krupnijeg je jedra, gušće citoplazme i intenzivno raste. Završetak njenog rasta obeležen je redukcionom deobom koja dovodi do obrazovanja četiri haploidne makrospore u linearnom rasporedu (jedna iznad druge). Time je proces makrosporogeneze završen (kraj VII c podetape). Za razliku od mikrosporogeneze, gde sve tetrade učestvuju u daljem toku organogeneze, ovde samo donja, najkrupnija makrospora nastavlja dalje sa organogenezom, a tri gornje sitnije makrospore koje su okrenute ka mikropili se pod pritiskom spljošte i degenerišu (Sl. 51–52.).



Sl. 51–52. Uvećavanje četvite najdonje makrospore u semenim zamecima cvetnih pupoljka sorte Burlat i Stela, po redu: pod pritiskom narastajuće makrospore ostale bivaju potisnute dublie ka mikropilarnom polu, i na kraju se spljošte i degenerišu.

- Makrogametogeneza predstavlja dalji nastavak procesa organogeneze, i ona se odvija u semenom zametku, gde se nakon tri uzastopne deobe jedra makrospore (koju ne prati i citokineza) obrazuje makrogametofit–embrionova kesica. Kod biljaka iz roda *Prunus* embrionova kesica je monosporna, bipolarna i osmojedarna (*Polygonum* tip embrinove kesice). Sam proces makrogametogeneze možemo podeliti u dve faze: jednu koja obuhvata seriju deoba makrospore u toku tri uzastopne mitoze (VIII– do VIII c podetape) i drugu koja obuhvata period funkcionalnog citološkog organizovanja dobijenih elemenata u normalni osmojedarni stadijum embrionove kesice, koju odlikuje pojava vakuola i izduživanje kesice (VIII d podetapa). U sprovedenim istraživanjima

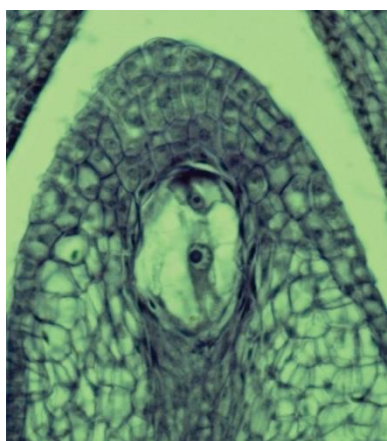
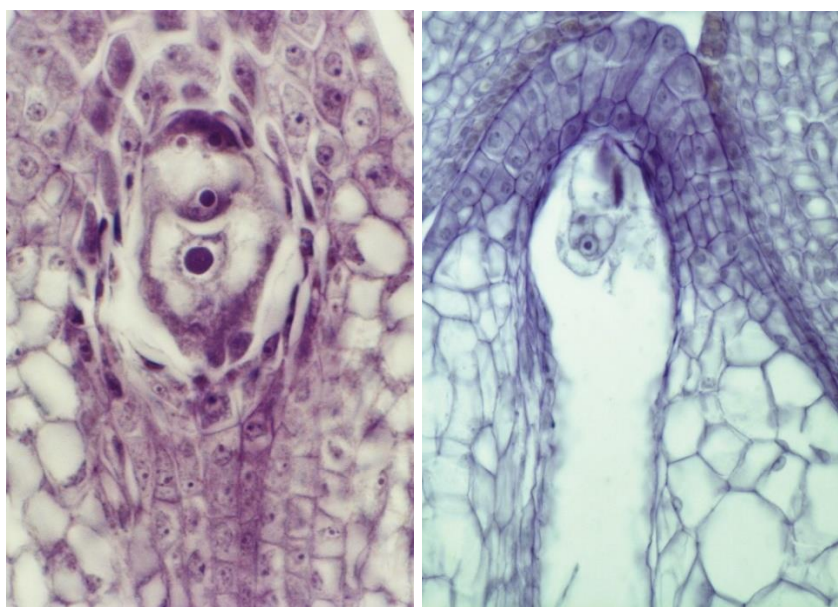
proces makrogametogeneze je praćen uočavanjem odgovarajućeg broja jedara nakon svake od tri mitotičke deobe (Sl. 53–55.). U ovoj fazi embrionova kesica sadrži ćelije koje su dosta male, međusobno su zbijene i nemaju izražene vakuole. Navedene podetape uglavnom su konstatovane u fenofazi balona, kada je primetna polarizacija elemenata jajnog aparata, a on sam je skupljen uz mikropilarni kraj embrionove kesice;



Sl. 53–55. Dvo-, četvero- i osmojedarni stadijum razvoja embrionove kesice u semenim zamecima cvetnih pupoljaka sorti Burlat, Stela i Drojanova žuta, po redu: procese odlikuju krupna jedra, njihova zbijenost i polarizacija.

- Funkcionalno citološko organizovanje jajnog aparata (VIII d podetapa) u embrionovoj kesici podrazumeva kruškast izgled sinergida sa vakuolama okrenutim ka halaznom polu i jedro sa krupnim jedarcem na mikropilarnom polu, u neporednoj blizini jajne ćelije. Ona je kruškastog

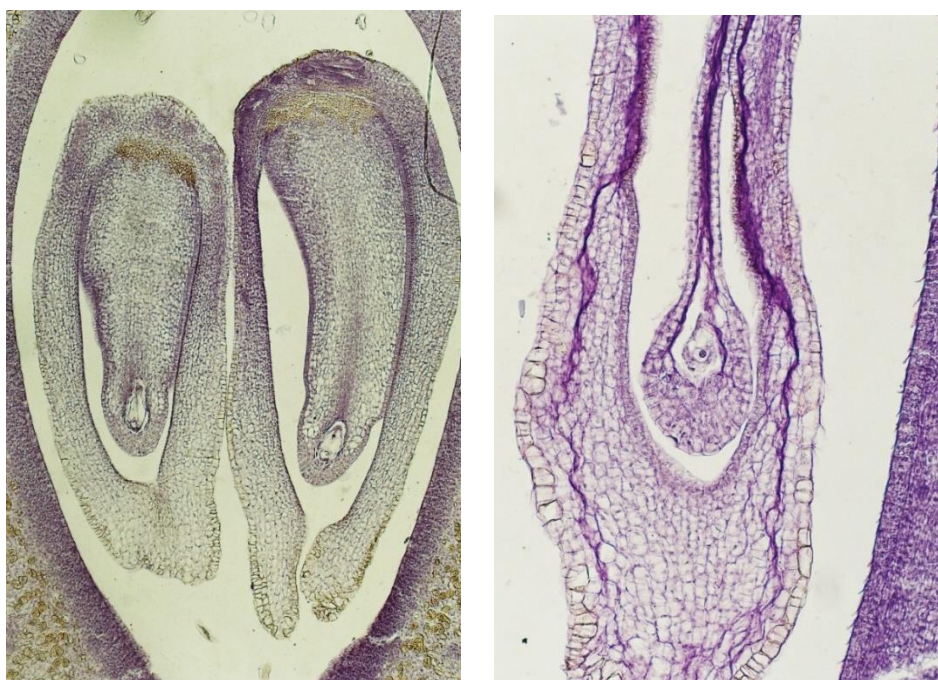
izgleda, sa krupnom vakuolom lociranom ka mikropilarnom polu i krupnim jedrom okrenutim ka halaznom polu, u tzv. srpastoj zoni citoplazme (Sl. 56-58.). Tri antipode su smeštene na halaznom polu (antipodni kompleks je vidljiv samo u ranim fazama punog cvetnja), dok centralno jedro sa većim brojem vakuola zauzima prostor između jajnog aparata i antipoda, a nastaje spajanjem polarnih jedara, čime je i konačno određen krajnji broj jedara u embrionovoj kesici neposredno pred oplodnju. Citokineza sledi najpre na mikropilarnom polu, gde su integumenti u potpunosti zatvorili gornji deo nucelusa, i svojim izdizanjem formirali mikropilu koja sada naleže na telo opturatora. Zajedno sa procesom obrazovanja embrionove kesice razrasli su i ostali delovi cveta (tučak sa svim svojim morfološkim elementima) a u lokulama antera tapetum je u potpunosti resorbovan i razvijen je fibrinozni sloj za raspucavanje antera i izbacivanje polena.



Sl. 56–58. *Funkcionalno citološko organizovanje elemenata embrionove kesice: Krupna jajna ćelija u zoni srpaste citoplazme u pratnji sinergida i krupno centralno jedro sa slabo uočljivim i poluresorbovanim antipodama na halaznom polu (Burlat); Jajna ćelija neposredno pred oplodnju, sinergide resorbovane (Stela); Konstituisan jajni aparat sa*

- Histološka analiza formiranja *Polygonum* tipa embrionovih kesica kod ispitivanih sorti trešnje nije ukazala na aberantne procese vezane za citološku degeneraciju, a u momentu otpočinjanja IX etape organogeneze (cvetanje i poces singamije-dvojno oplodjenje) embrionove kesice još uvek nemaju osmojedarnu citološku konstituciju.

- Plodnik kod biljaka iz roda *Prunus* normalno sadrži dva semena zametka približno sličnih dimenzija koji koegzistiraju do samog početka punog cvetanja; Sa nastupanjem ove etape cvetanja jedan od semenih zametaka dostiže svoju punu veličinu, a drugi progresivno atrofira i na kraju se potpuno degeneriše. Položaj semenih zametaka u plodniku je anatropan (mikropila je okrenuta prema licu placentе-u donjem je položaju je, a halazni kraj je na gornjoj poziciji), a placentacija parijentalna (placenta je ugrađena u zidu plodnika). Semeni zameci su medijalno postavljeni i spojeni putem funikulusa za placentu plodnika. Polenova cevčica uvek prodire u veći, funkcionalno sposoban semeni zametak. Histolološka analiza plodnika ispitivanih sorti trešnje pokazala je u pojedinim slučajevima prisustvo udvojenih semenih zametaka, koji su funkcionisali u skladu sa prethodno iznetim konstatacijama (Sl. 59–60.).



Sl. 59–60. Udvojeni semeni zameci sorte *Burlat* u anatropnom položaju: konstituisan jajni aparat (desni zametak), tj. progresivno atrofiranje do vidljive degeneracije (levi zametaki slika desno).

- Procesi koji su vezani za narednu IX etapu organogeneze (cvetanje, oslobađanje zrelog polena iz prašnica, lučenje nektara od strane nektarnih žlezda u cilju privlačenja insekata, polinacija i prihvatanje polena na žigu tučka, klijanje polenovog zrna i razrastanje polenove cevčice kroz stubić do njegove baze, prolazak preko opturatora i prodor u semeni zametak i jajni aparat kroz mikropilu u nastupajućem procesu singamije i spajanja genetskog materijala muških gameta sa jedrom jajne ćelije i centralnog jedra) nisu praćeni na histocitološkom nivou usled nepostojanja adekvatne opreme za fluorescentnu mikroskopiju koja je neophodna za ovakvu vrstu analize.

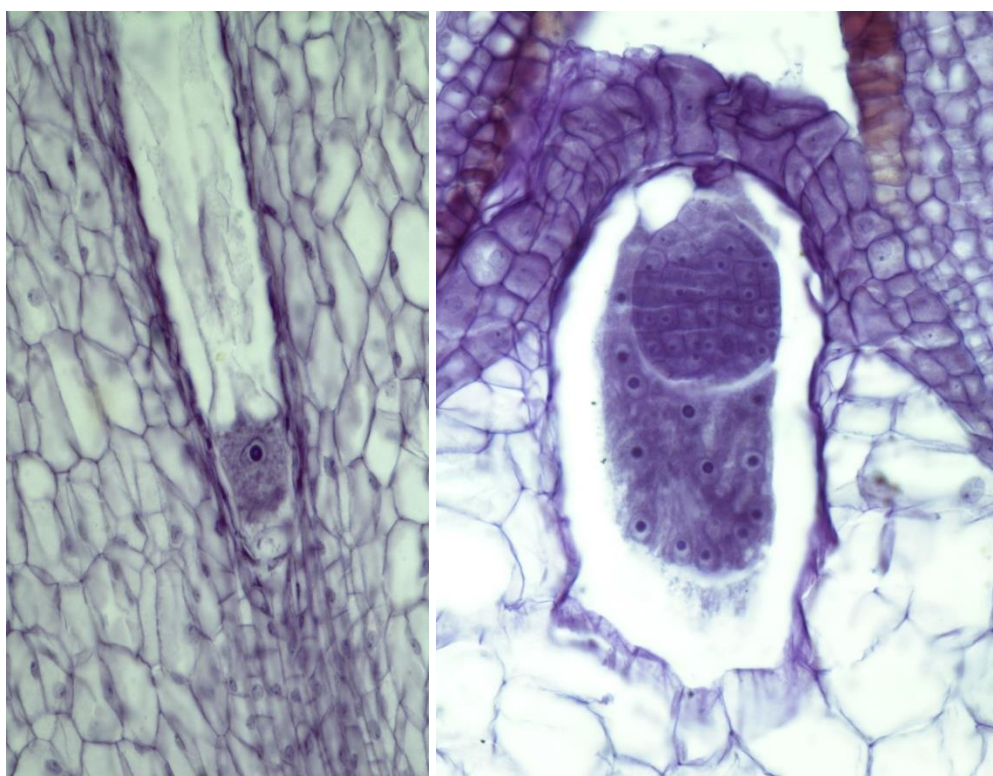
- X etapa organogeneze (formiranje zigota–klice i njen razvoj do globularnog embriona) koincidira sa prvom od tri etape razvoja ploda. Anatomsko-histološka analiza rasta i razvitka oplođenog semenog zametka ukazuje najpre na intenzivan rast integumenata i nucelnog tkiva koje prate ubrzan porast ploda, uz snažno izduživanje embrionove kesice u pravcu halaznog pola gde ona u jednom trenutku prerasta u haustorijalnu plodnicu. Ona dalje obrazuje plazmastični sloj oko embriona i spušta se kroz nucelarno tkivo prema halazi (Sl. 61–63.). U trenutku kada su integumenti i nucelarno tkivo dostigli oko polovine svoje konačne veličine embrion je tek sa desetak ćelija i u globularnoj je formi. Prorastanje haustorijalne plodnice do halaze prati pojava ćelija suspensora nastalih poprečnim deobama bazalne ćelije hipofiznog regiona, koje u konačnom diferenciraju u radikulu (korenak).



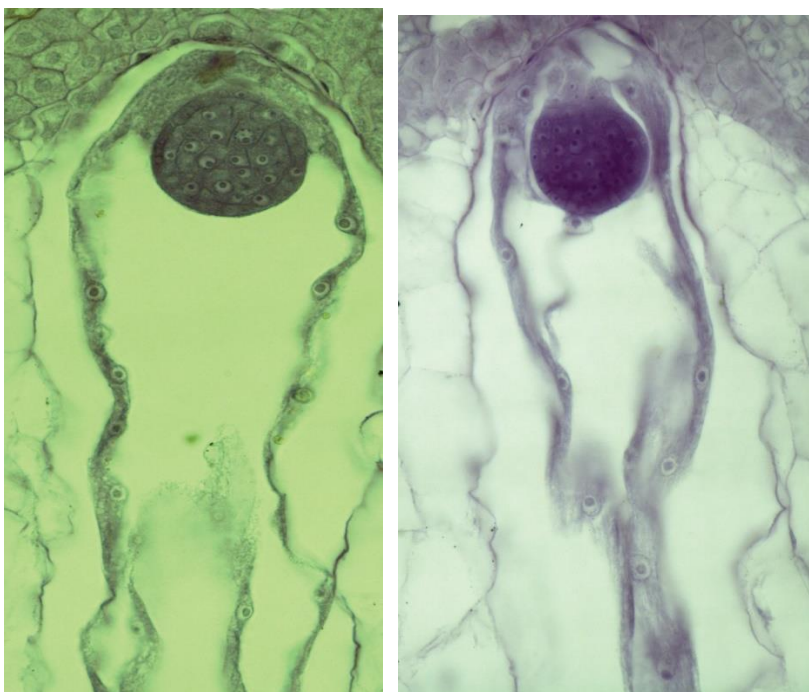
Sl. 61–63. Rana embriogeneza u semenim zamecima sorti Burlat, Stela i Droganova žuta, po redu: Rana faza razvoja globularnog embriona praćena je nastankom plazmastičnog omotača oko embriona, kao i nastankom i izduživanjem haustorijalne plodnice u pravcu halaze.

- Dalje razrastanje integumenata i nucelnog tkiva ne prati i porast embriona (još uvek je u fazi ranog embrionalnog razvoja, globularna forma) ali dolazi do inicijalnog formiranja nuklearnog endosperma, začetog mitotičkim deobama ćelije haustorijalne plodnice. Naime, deobe se dešavaju u zoni citoplazme koja je poreklom od centralne ćelije a smeštena je u perifernom, halaznom delu plodnice (Sl. 64.). Zadržavanje vaskularnih elemenata u halaznom delu semenog zametka upućuje

na zaključak da je halazni haustorijum preuzeo funkciju ishrane narastajućeg endosperma. Novodobijena jedra nastala intenzivnim mitotičkim deobama polako ispunjavaju citoplazmu i u kasnijim fazama diferencijacije ispunjavaju i središnji deo plodnice tokom formiranja kompletnog endosperma (Sl. 65.). Na kraju prve etape porasta ploda (koincidira sa X etapom organogeneze), integumenti i nucelus su završili svoj porast. Od integumenata postaje semenjača a nucelus se u kasnijim fazama rasta ploda progresivno resorbuje na račun novoformiranog endosperma. Embrion je i dalje u globularnoj formi, a centralna vakuola haustorijalne plodnice sada je ispunjena brojnim jedrima u nastupajućem procesu citokineze (obrazovanje ćelijskog endosperma), što označava početak formiranja *sekundarnog endosperma*, hranljivog tkiva semena.



Sl. 64–65. Završni procesi X etape organogeneze tokom prve etape porasta ploda kod sorte Stela: Formiranje halaznog haustorijuma (mikrofotografija levo) koji preuzima funkciju ishrane narastajućeg ćelijskog endosperma (mikrofotografija desno).



Sl. 66–67. *Završni procesi X etape organogeneze tokom prve etape porasta ploda kod sorte Stela i Drganova žuta, po redu: i dalje je prisutna globularna forma embriona, uz resorpciju nucelarnog tkiva i obrazovanje haustorijalne plodnice, u procesu formiranja sekundarnog endosperma.*

Opisani tok i dinamika procesa makrogametogeneze kod ispitivanih sorti trešnje, uključujući i organizaciju embrionove kesice, proces singamije i postploidne procese (formiranje endosperma tokom punog cvetanja) predstavljaju sastavni deo regulalnog toka ciklusa organogeneze kod skrvenosemenica. Ovi procesi u kvalitativnom smislu ne predstavljaju ograničavajući faktor uspešnosti odvijanja singamije, procesa tranzicije od haploidne ka diploidnoj fazi kojim se uređuje genetički materijal. Kako su i ova ispitivanja pokazala, redukcija gametofita kod viših biljaka (skrvenosemenica) je jako izražena i odlikuje se malim brojem ćelija visokog stepena diferenciranosti. Uticaj sporofitne generacije na gametofitnu je direktna, a interakcije među njima su brojne, i to naročito tokom progamne faze transporta muškog genetičkog materijala od polenovog zrna (muškog gametofita) do embrionove kesice (ženskog gametofita).

6.4. Modeliranje ekoloških faktora

Dinamika procesa diferencijacije generativnih organa, tkiva i ćelija predstavlja osnovu za biološku kontrolu rasta i razvitka, u smislu pravovremene primene agro- i pomotehničkih operacija kao i programiranja realizacije rodnog potencijala kod voćaka. U tom smislu, proces konstituisanja muškog i ženskog gametofita kod 3 ispitivane sorte trešnje praćen je i preko suma aktivnih i

efektivnih temperatura, koje su obračunate za svaku od makro- i mikrofenofaza u organogenezi reproduktivnih organa trešnje (Tab. 2–4.).

Tab. 2. *Dinamika osnovnih mikro- i makrofenofaza u organogenezi reproduktivnih organa trešnje kod ispitivanih sorti u Padinskoj Skeli, sa sumama aktivnih temperatura (°C)*

FENOFAZE	GODINE	SORTE					
		<i>Rana burlatova</i>		<i>Stela</i>		<i>Droganova žuta</i>	
		Datum	ΣT (°C)	Datum	Σ T (°C)	Datum	Σ T (°C)
<i>Profaza u mikrosporogenezi</i>	2013.	10.03.	40,2	09.03.	33,4	09.03.	33,4
	2014.	22.02.	43,2	19.02.	34,4	23.02.	44,6
	2015.	17.03.	41,0	16.03.	37,2	15.03.	34,4
<i>Mejoza u mikrosporogenezi</i>	2013.	13.03.	51,4	13.03.	51,4	14.03.	51,5
	2014.	28.02.	48,6	27.02.	46,3	28.02.	48,6
	2015.	20.03.	46,7	19.03.	44,2	18.03.	44,2
<i>Tetrade u mikrosporogenezi</i>	2013.	16.03.	31,5	19.03.	54,7	18.03.	51,5
	2014.	03.03.	53,4	5.03.	56,7	07.03.	59,4
	2015.	24.03.	56,8	22.03.	49,5	24.03.	56,8
<i>Polen</i>	2013.	30.03.	64,0	28.03.	60,5	24.03.	60,5
	2014.	08.03.	62,0	08.03.	62,0	13.03.	68,6
	2015.	26.03.	72,9	25.03.	63,0	27.03.	80,3
<i>Bela glavica</i>	2013.	10.04.	85,5	09.04.	81,1	14.04.	115,8
	2014.	18.03.	95,7	19.03.	99,4	22.03.	120,8
	2015.	01.04.	97,9	31.03.	94,6	07.04.	109,3
<i>Puno cvetanje</i>	2013.	12.04.	100,9	13.04.	108,7	16.04.	128,0
	2014.	23.03.	130,9	22.03.	120,8	27.03.	145,7
	2015.	07.04.	109,3	09.04.	116,0	11.04.	129,7

Dobijeni rezultati praćenja procesa diferencijacije tkiva antere kao i samog procesa mejotičke deobe u mikrosporogenezi kod ispitivanih sorti u oglednom periodu pokazuju da su se fenofaze odvijale istim redosledom ali i da su postojala odstupanja u smislu početka i trajanja pojedinih faza kod osnovnih faktora varijabilnosti (sorte i godine).

Posmatrajući tok i dinamiku mikrosporogeneze kod sorti u ogledu, generalno se može konstatovati kako je sam početak procesa (profaza i mejoza) nešto kasnije kretao kod sorte Burlat u odnosu na ostale sorte, tj. da je kod ove sorte bila potrebna veća suma aktivnih temperatura za pokretanje procesa mikrosporogeneze. Već u sl. mikrofenofazi (tetrade u mikrosoprogenezi) situacija je potpuno obrnuta kada je reč o pomenutoj sorti. Naime, kroz ovu fazu sorta Burlat najbrže prolazi, da bi tokom gametogeneze trend usporenijeg prolaska kroz fenofaze bio izražajniiji u odnosu na sortu Stela, ali ne i u odnosu na Droganovu žutu. Ovoj sorti, naime, bila je potrebna ubedljivo najveća suma aktivnih temperatura za formiranje polena i otvaranje cvetova.

Tok i dinamika mikrosporo- i gametogeneze u periodu 2013–2015 nije imala tako izražajne trendove između oglednih godina kao između sorti, ali se generalno može primetiti nešto kasniji tok nekih od praćenih fenofaza (profaza, tetrade, bela glavica i cvetanje) u 2014. godini u odnosu na ostale godine ispitivanja. S druge strane, to se ne bi moglo zaključiti kada je u pitanju tok fenofaza mejoze i polena, gde je 2013. godina bila nešto poznija za odvijanje mejoze a 2015. najpoznija za formiranje polena.

Tab. 3. Pregled dinamike mikro i makrofenofaza u organogenezi trešnje kod ispitivanih sorti, sa posebnim osvrtom na kretanje aktivnih temperatura ($^{\circ}\text{C}$) tokom oglednog perioda (2013-2015)

$\sum T (^{\circ}\text{C})$ iznad 5°C od ulaska u ekološko mirovanje			<i>Rana burlatova</i>	<i>Stela</i>	<i>Droganova žuta</i>
Fenofaze	<i>Profaza u mikrosporogenezi</i>	$\bar{X}$	41,47	35,00	37,47
		amplituda	40,2 – 43,2	33,4 – 37,2	33,4 – 44,6
		raspon $^{\circ}\text{C}$	3,0	3,8	11,2
	<i>Mejoza u mikrosporogenezi</i>	$\bar{X}$	48,9	47,3	48,1
		amplituda	46,7 – 51,4	44,2 – 51,4	44,2 – 51,5
		raspon $^{\circ}\text{C}$	4,7	7,2	7,3
	<i>Tetrade u mikrosporogenezi</i>	$\bar{X}$	44,23	53,63	55,9
		amplituda	31,5 – 56,8	49,8 – 56,7	51,5 – 59,4
		raspon $^{\circ}\text{C}$	25,3	6,9	7,9
	<i>Polen</i>	$\bar{X}$	66,30	61,83	69,8
		amplituda	62,0 – 72,9	60,5 – 63,0	60,5 – 80,3
		raspon $^{\circ}\text{C}$	10,9	2,5	19,8
	<i>Bela glavica</i>	$\bar{X}$	93,03	91,70	115,3
		amplituda	85,5 – 97,9	81,1 – 99,4	109,3 – 120,8
		raspon $^{\circ}\text{C}$	12,4	18,3	11,5
	<i>Puno cvetanje</i>	$\bar{X}$	113,7	115,17	134,5
		amplituda	100,9 – 130,3	108,7 – 120,8	128,0 – 145,7
		raspon $^{\circ}\text{C}$	29,3	12,1	17,7

Tok i dinamika pomenutog procesa organogeneze, praćeni iz ugla prosečne sume i amplituda aktivnih temperatura kao i temperaturnog raspona (Tab. 3.) na nivou sorti ukazuju na pojavu neznatno većih suma aktivnih temperatura, ali i relativno konstantnog i uskog temperaturnog opsega za otpočinjanje procesa mikrosporogeneze (profaza i mejoza) kod sorte Burlat u odnosu na ostali biljni materijal u ogledu, dok se kod ostalih fenofaza ovaj trend nije održao. Štaviše, fenofaza tetrada kod sorte Burlat odvijala se u relativno širokom temperaturnom opsegu, koji je bio nekoliko puta veći u odnosu na isto kod sorti Stela i Droganova žuta. Takođe je

bilo primetno da je sorta Drozanova žuta imala ubedljivo najveće temperaturne amplitude kada se radi o sumama aktivnih temperatura za aktiviranje procesa mikrosporigeneze u proleće kao i za formiranje polena. Ove pojave upućuju na nestabilnost pomenutih genotipova, koji znaju da budu isprovocirani različitim temperaturama za aktiviranje pojedinih etapa organogeneze. Nekih drugih pravilnosti u kretanju posmatranih obeležja na nivou sorti nije više bilo, što bi moglo između ostalog da ukazuje i na jako interakcijsko dejstvo osnovnih faktora varijabilnosti (sorte i ogledne godine).

Tab. 4. *Dinamika osnovnih fenofaza u makrosporo- i gametogenezi reproduktivnih organa trešnje posmatranih sorti u Padinskoj Skeli sa sumama aktivnih temperatura (°C)*

FENOFAZE	GODINE	SORTE					
		<i>Rana burlatova</i>		<i>Stela</i>		<i>Drozanova žuta</i>	
		Datum	$\sum T (^{\circ}C)$	Datum	$\sum T (^{\circ}C)$	Datum	$\sum T (^{\circ}C)$
<i>Sporogeno tkivo ženskog gametofita</i>	2013.	11. 03.	43,4	10. 03.	40,2	10. 03.	40,2
	2014.	23. 02.	44,6	20. 02.	36,2	24. 02.	45,4
	2015.	17. 03.	41,0	16. 03.	37,2	16. 03.	37,2
<i>Mejoza u makro-sporogenezi</i>	2013.	18. 03.	51,5	21. 03.	60,5	19. 03.	54,7
	2014.	04. 03.	55,3	06. 03.	57,6	09. 03.	63,3
	2015.	24. 03.	56,8	23. 03.	51,9	25. 03.	63,0
<i>Konstituisanje jajnog aparata</i>	2013.	14. 04.	115,8	16. 04.	128,0	18. 04.	145,2
	2014.	26. 03.	139,4	27. 03.	145,7	01. 04.	178,0
	2015.	10. 04.	121,2	14. 04.	157,1	16. 04.	177,2
<i>Embriogeneza</i>	2013.	27. 04.	252,3	29. 04.	281,9	29. 04.	281,9
	2014.	12. 04.	249,5	10. 04.	241,3	12. 04.	249,5
	2015.	24. 04.	230,1	26. 04.	252,1	29. 04.	293,2

Rezultati ispitivanja toka osnovnih fenofaza u organogenezi ženskih reproduktivnih organa trešnje kod ispitivanih sorti u Padinskoj Skeli (Tab. 4.) ukazuju na nešto poznije odvijanje etapa u konstituisanju ženskog gametofita kod sorte Drozanova žuta u odnosu na ostale sorte u ogledu, što se podudara sa već poznatim fenološkim osobinama ove sorte (poznocvetnost, i pozno vreme zrenja plodova–6. nedelja trešnje). S druge strane, nedoslednost u ponašanju rane sorte Burlat, kada se radi o konstituisanju ženskog gametofita, uočava se najpre u kasnijem konstituisanju sporogenog

tkiva u odnosu na ostale sorte. Situacija se potom dovodi u red tokom proticanja ostalih fenofaza, koje kod ove ranocvetne sorte najranije otpočinju i najbrže protiču.

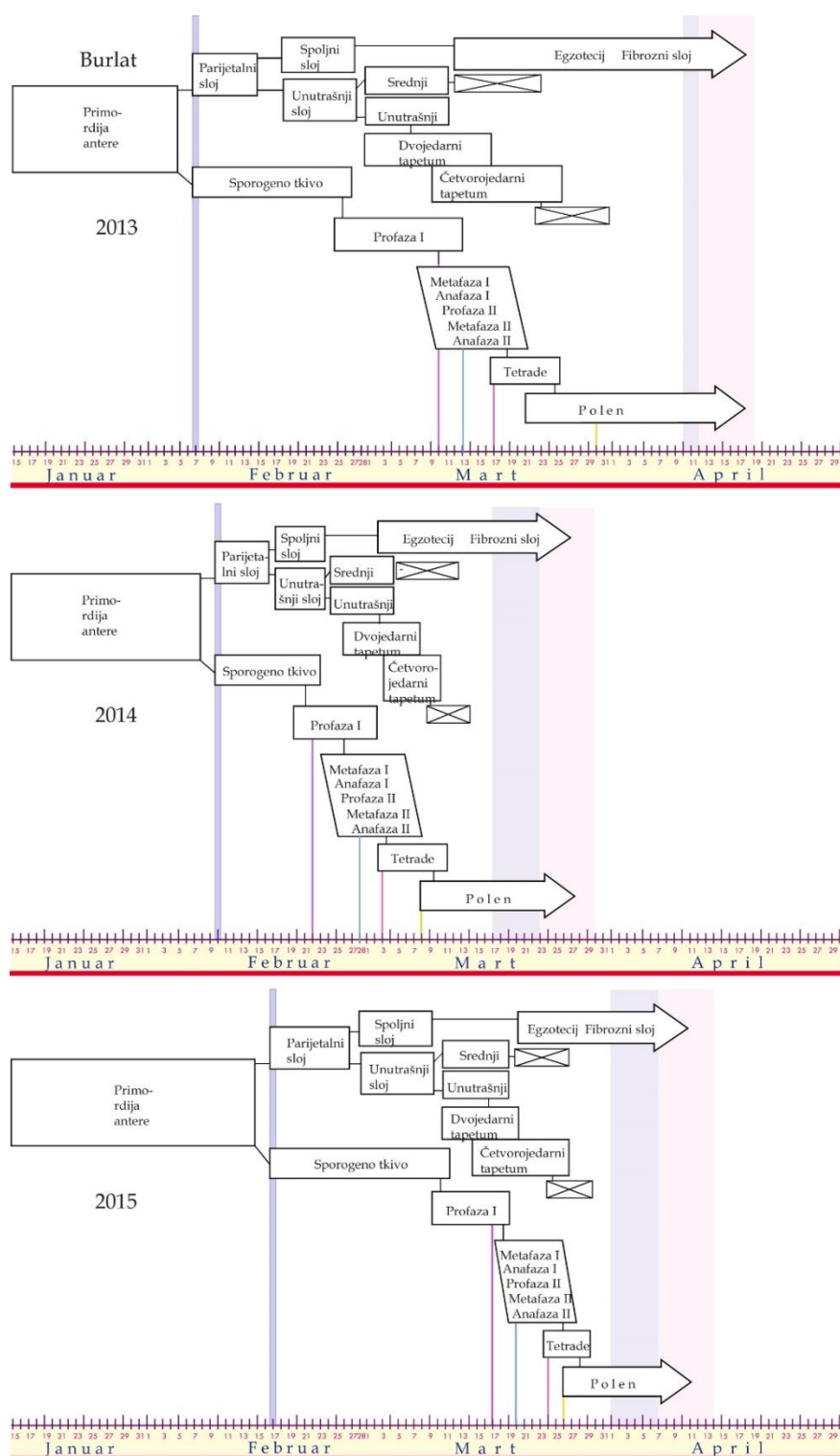
Posmatrajući fenonaze u makrosporo- i gametogenezi tokom oglednih godina primetan je bio njihov znatno raniji tok u 2014. godini, s obzirom na relativno ranije postizanje neophodne sume aktivnih temperatura za otpočinjanje fenofaza. S druge strane, proces makrosporogeneze bio je najpozniji u svom toku tokom proleća 2015. godine, da bi se situacija preokrenula tokom procesa gameto- i embriogeneze na stranu prve ogledne godine, u kojoj su pomenuti procesi najsporije proticali i pored ostvarene najveće sume aktivnih temperatura za otpočinjanje procesa embriogeneze u 2013. godini. Ostale pravilnosti u odvijanju pomenutih fenofaza na nivou godina nisu bile izražene, što upućuje na prisustvo interakcijskog dejstva osnovnih faktora varijabilnosti (sorte i ogledne godine).

S obzirom da se ciklus organogeneze istovremeno i paralelno odvija na većem broju različitih kategorija prirasta različitim intenzitetom, javlja se potreba za integralnim proučavanjem svih faktora koji posredno ili neposredno mogu uticati na pomenuti ciklus. Algoritamska forma praćenja konstituisanja muškog i ženskog gametofita pokazala se kao odgovarajući alat za praćenje toka diferencijacije tkiva i ćelija u organogenezi reproduktivnih organa trešnje, koji su pozicionirani u jedinstven i međusobni dinamički odnos, sa izlaznim fazama formiranja polena i razvoja embriona. Ovakav koncept dodatno pruža i mogućnost permanentnog dopunjavanja osnovnog algoritma novim međukoracima u procesima diferencijacije biljnog organizma, kao i pozicioniranje primene odgovarajućih agro- i pomotehničkih tretmana koji su biološki određeni pojedinim etapama organogeneze.

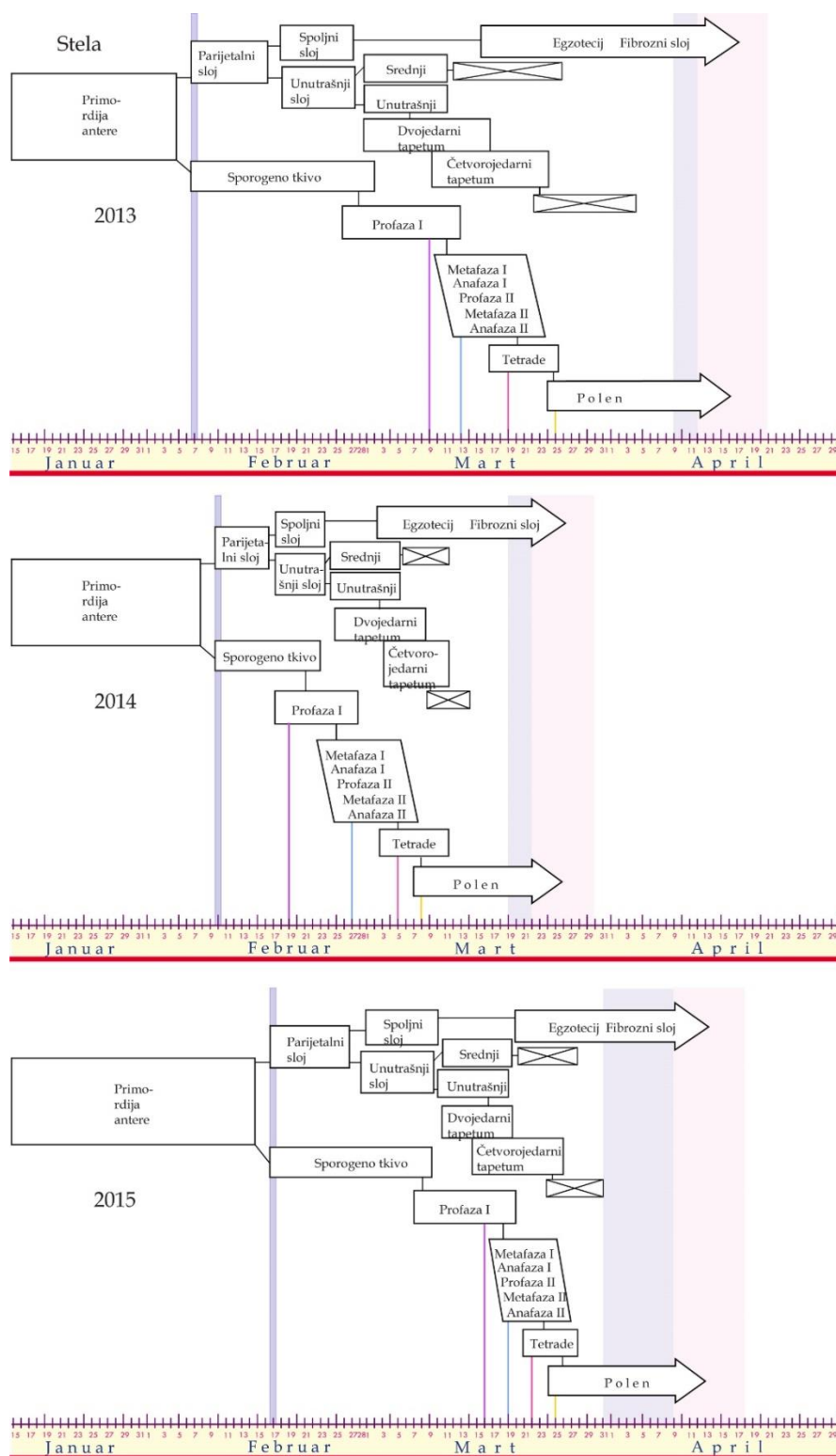
Tok diferencijacije tkiva antere u procesima mikrosporo- i gametogeneze kod proučavanih sorti trešnje prikazan algoritamski na Šemama 1–3 i odvija se na sl. način:

- Tokom biološkog zimskog mirovanja (januar i početak februara meseca) ćelije primordija antere su ujednačenog stepena diferenciranosti;
- Tokom prve i druge (2015. godina) dekade februara meseca u ekološkom mirovanju započinje proces sporogeneze, u smislu uvećanja i diferencijacije ćelija budućeg sporogenog tkiva, koje su dalje vođene kroz mejotičku pa potom i mitotičke deobe u centrima lokula antera. Sve ovo je praćeno snažnim procesima diferencijacije ćelija zida antera u njihova tri sloja (egzotecijum, međusloj i novonarastajuće tkivo tapetuma);
- Tokom treće dekade marta meseca, odnosno prve do treće dekade marta (2014. godina) dolazi do formiranja mladih polenovih zrna u procesu gametogeneze, koji je praćen istovremenim resorbovanjem ćelija tapetuma.

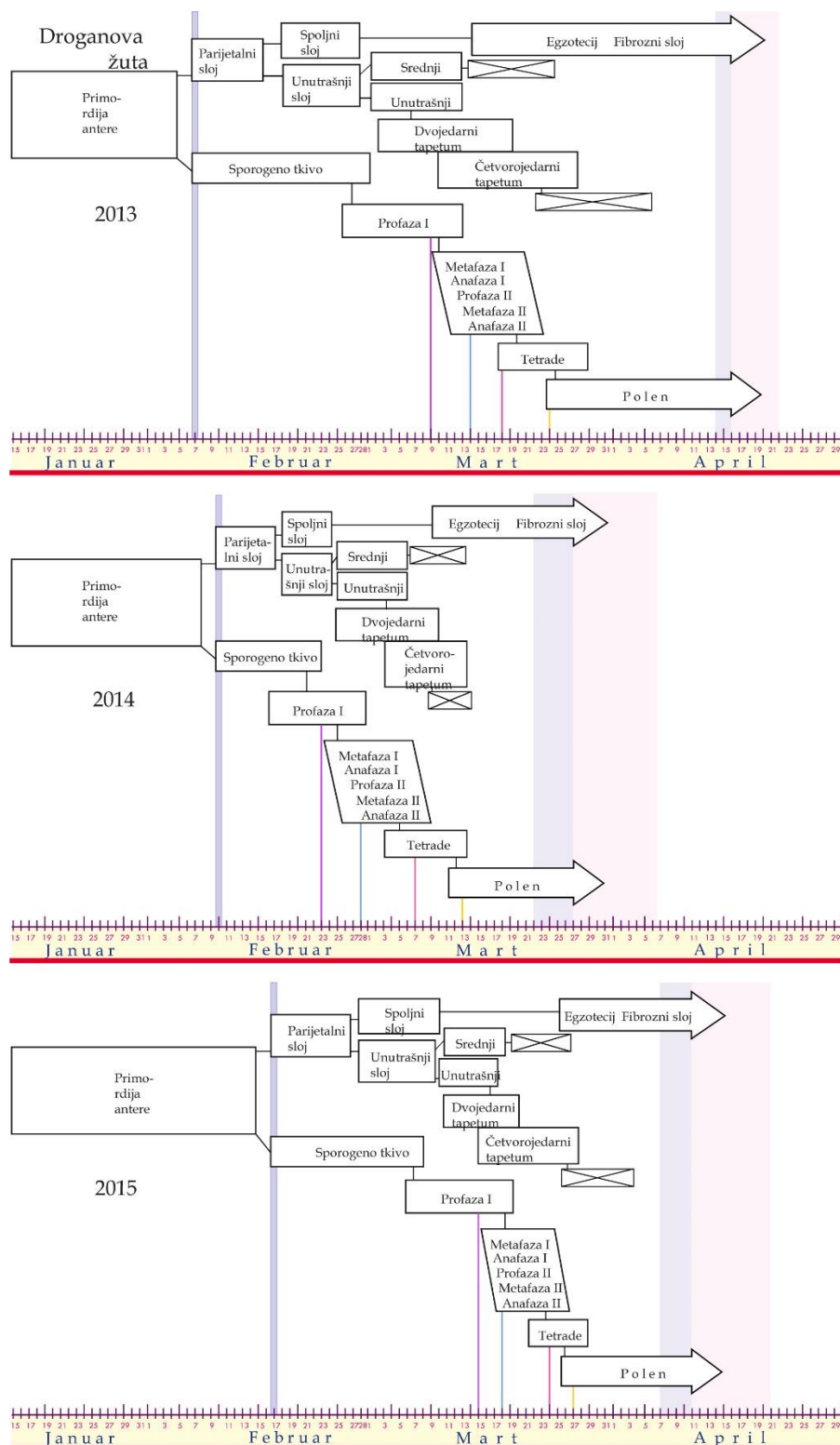
Šema 1. Redosled i dinamika diferencijacije ćelija i tkiva u procesu organogeneze muških reporduktivnih organa kod sorte Burlat (2013-2015)



Šema 2. Redosled i dinamika diferencijacije ćelija i tkiva u procesu organogeneze muških reporduktivnih organa kod sorte Stela (2013-2015)



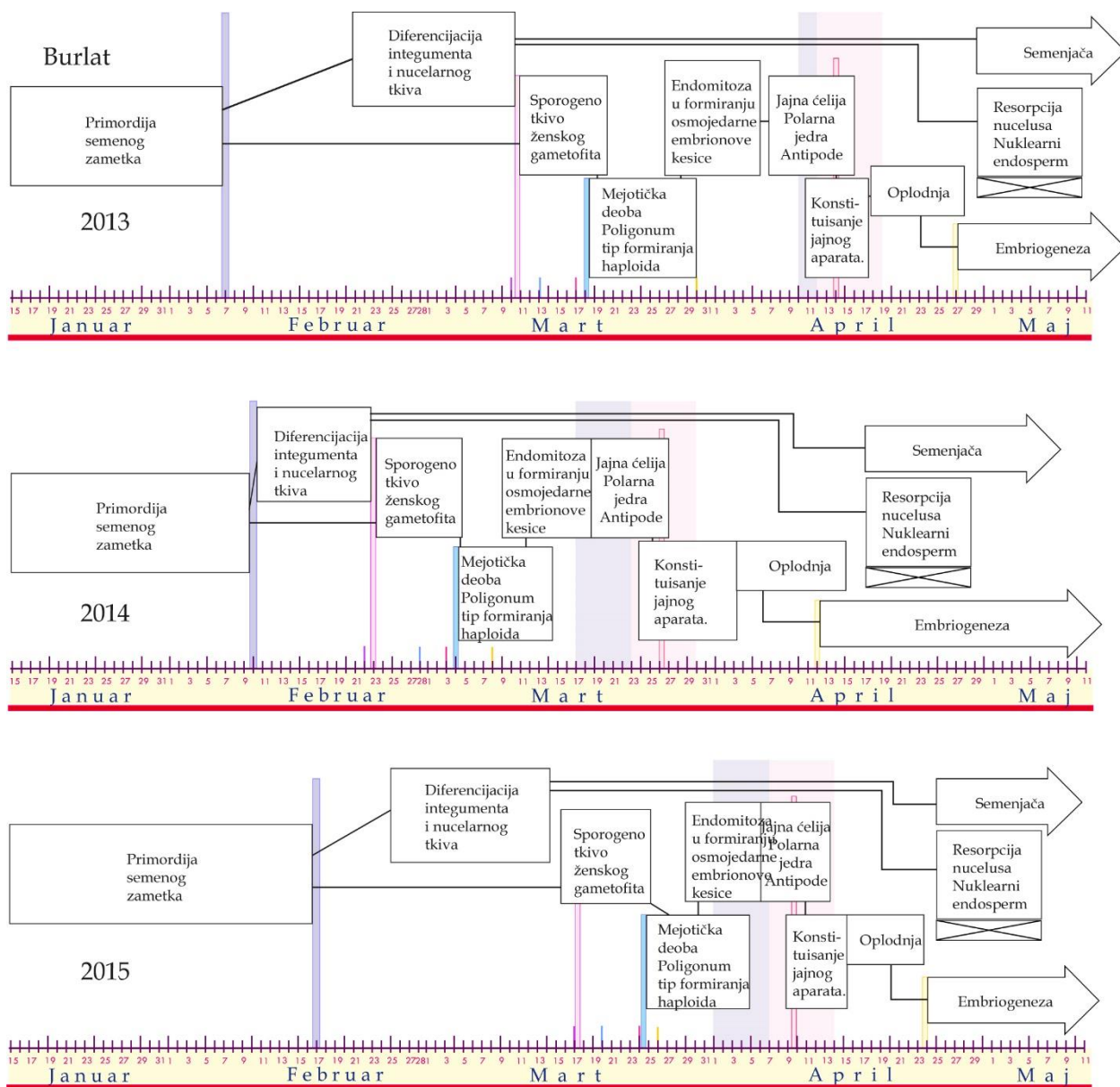
Šema 3. Redosled i dinamika diferencijacije ćelija i tkiva u procesu organogeneze muških reporduktivnih organa kod sorte Droganova žuta (2013-2015)



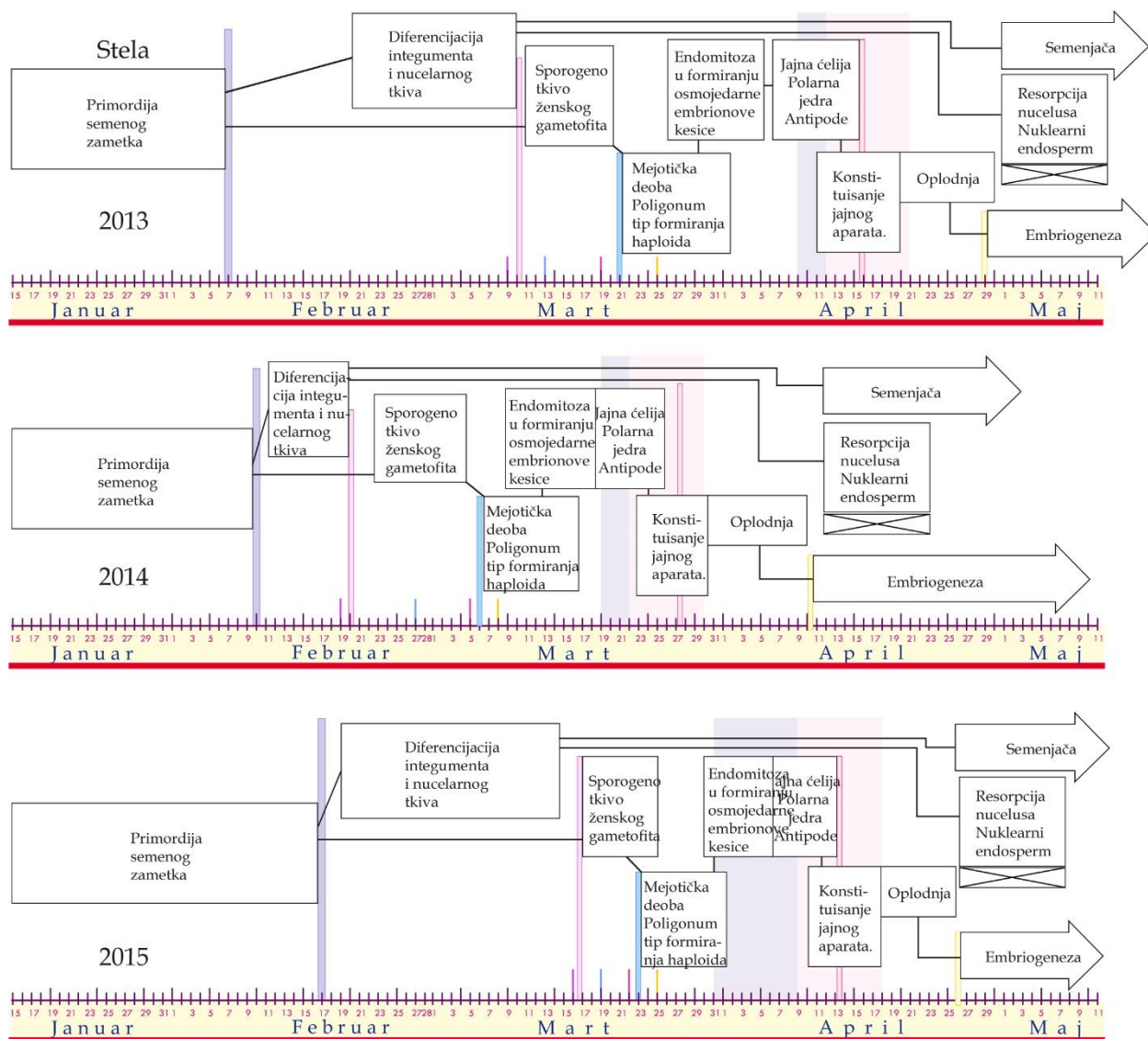
Redosled i dinamika diferencijacije ćelija i tkiva u semenom zametku kod tri sorte trešnje u ogledu, tokom procesa organogeneze ženskih reproduktivnih organa algoritamski je prikazan u Šemama 4–6 po sl. dinamici:

- Tokom biološkog zimskog mirovanja, zaključno sa prvom dekadom februara, odnosno do druge dekade februara (2015. godina) ćelije začetaka semenih zametaka bile su prisutne u formi kvržičastih izraštaja nediferenciranih meristema semenih zametaka;
- Već tokom februara (2014), odnosno i prve plovine marta meseca na bokovima nucelusa razvijaju se dva omotača (integumenti) koji u završnim etapama ovog procesa gotovo sa svih strana okružuju nucelarno tkivo, smešteno u centru semenog zametka. Ova podetapa organogeneze ubedljivo je bila najkraća u 2014. u odnosu na ostale ogledne godine;
- Proces formiranja sporogenog tkiva ženskog gametofita, predstavljen izdvajanjem materinske ćelije makrospore iz subepidermalnog sloja nucelusa, iz koje se naknadnim deobama dobijaju četiri haploidne makrospore u linearnom rasporedu i završetak makrosporogeneze kalendarski je obeležio drugu dekadu marta, tj. kraj februara i početak marta (2014.);
- Dalji proces formiranja osmojedarne embrionove kesice do konstituisanja jajnog aparata trajao je do sredine aprila u oglednim godinama (2014-početak aprila), dok je proces embriogeneze kod tri ispitivane sorte otpočinjao krajem aprila, izuzev 2014. koja je bila nešto ranija (druga dekada aprila meseca). Uporedo s pomenutim procesom tekla je resorpcija nucelusa, formiranje ćelijskog endosperma i semenjače.

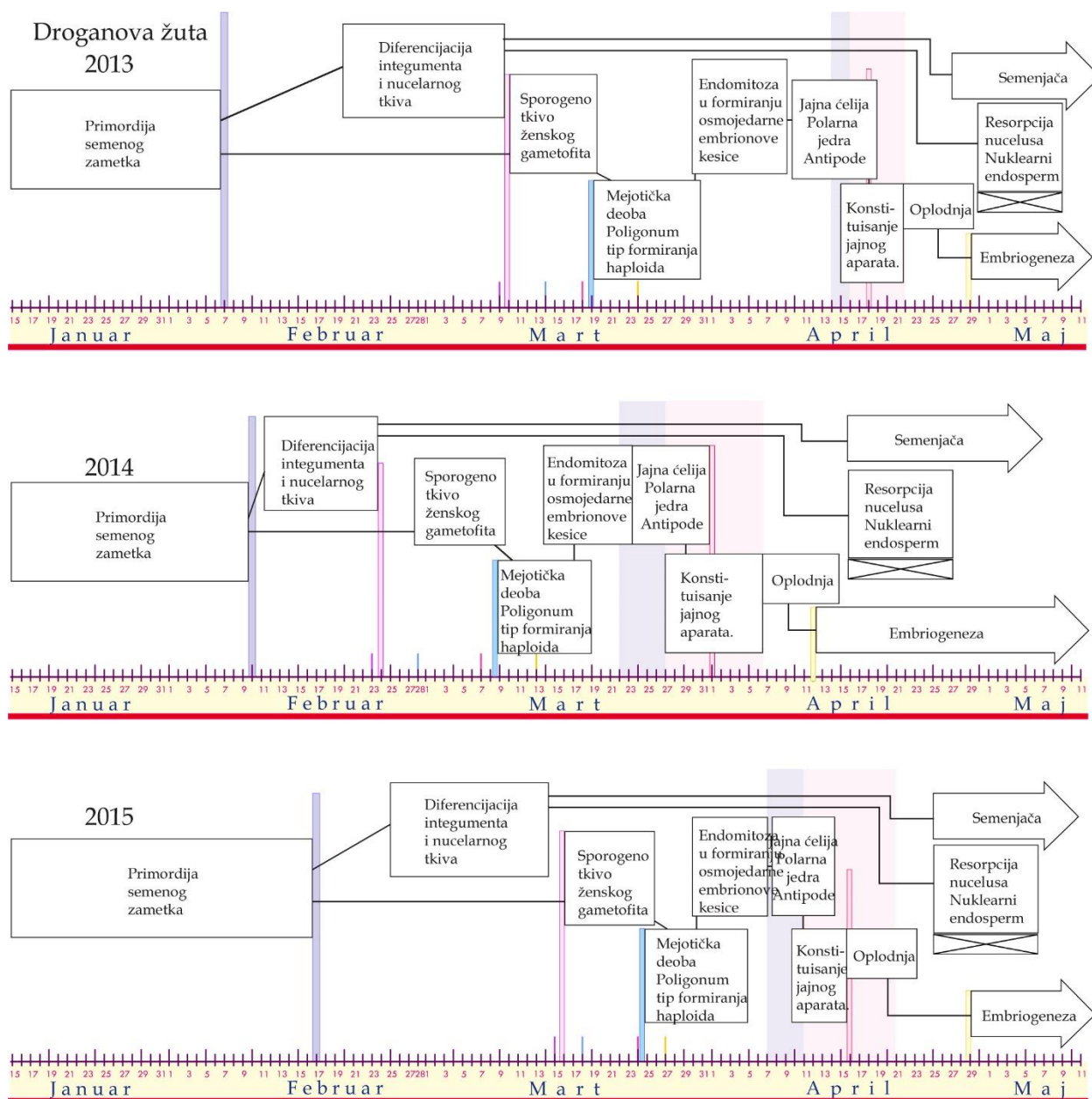
Šema 4. Redosled i dinamika diferencijacije ćelija i tkiva u procesu organogeneze
ženskih reporduktivnih organa kod sorte Burlat (2013-2015)



Šema 5. Redosled i dinamika diferencijacije ćelija i tkiva u procesu organogeneze
ženskih reporduktivnih organa kod sorte Stela (2013-2015)



Šema 6. Redosled i dinamika diferencijacije ćelija i tkiva u procesu organogeneze
ženskih reporduktivnih organa kod sorte Droganova žuta (2013-2015)



7. DISKUSIJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA

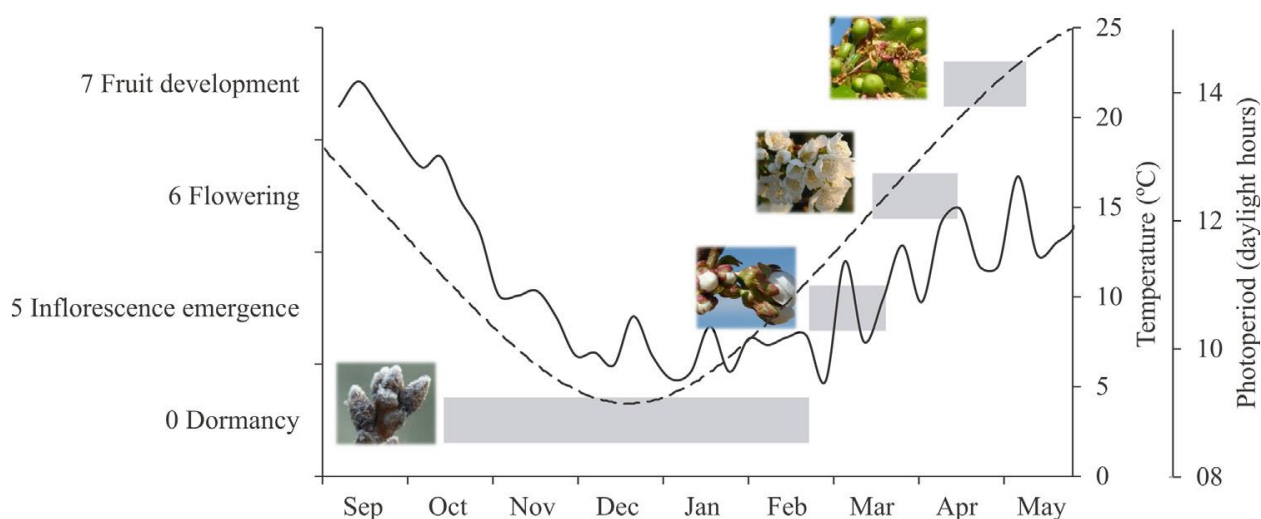
Ciklus organogeneze voćaka, definisan kroz 12 etapa raspoređenih u sukcesivnom i nepovratnom nizu, od kojih su prve dve usmerene na razvoj vegetativnih tačaka rasta a ostale obuhvataju ciklus diferencijacije generativnih pupoljaka sa ishodnim nivoima u formi muškog (polen) i ženskog (embionova kesica) gametofita, predstavlja zaokružen ciklus rasta i razvoja tačaka rasta jednog biljnog organizma na godišnjem nivou. Diferencijacija tkiva na nivou jednog organa voćke je sukcesivna i usklađena, dok između istoimenih organa na jednom stablu ovi procesi najčešće teku uporedo, što je saglasno biološkoj autonomnosti u njihovom rastu i razviću.

Pitanje diferencijacije pupoljaka i formiranja novih prirasta sa novim tačkama rasta posebno je delikatno kod vrsta sa čisto cvetnim pupoljcima, poput voćaka iz roda *Prunus* kome pripada i trešnja. Prelazak vegetacionih kupa (apexa) trešnje na generativni program diferencijacije podrazumeva i gubitak vegetativnih tačaka rasta, jer u cvetnim pupoljcima ne postoji meristem koji može obezbediti nov porast na tom nodusu. Pojava ranog ogolevanja nodusa na prirastima kod vrsta iz roda *Prunus* zapravo je posledica normalnog završetka generativnog dela ciklusa organogeneze. Stoga je ovo nepovratan proces na koga se ne može uticati nikakvim agro- i pomotehničkim merama. Mehanizam kontrole u pozicioniranju i usmeravanju diferencijacije vegetativnih tačaka rasta u vegetativni ili generativni program diferencijacije danas predstavlja ključni zadatak za pomotehniku, u cilju daljeg kultivisanja trešnje, odnosno biološke kontrole rasta i razvoja svake pojedine kombinacije sorta/podloga u datim uslovima gajenja. Osnova za definisanje pouzdanih modela kontrole rasta i razvoja ciljnih organa voćaka, a to je i osnova primene svih agro- i pomotehničkih mera u intenzivnim i visokointezivnim tehnologijama gajenja, danas predstavljaju ekspertski sistemi zasnovani na algoritmitma multiplih funkcija objedinjenih u međusobnoj interakciji na nivo kompletnog habitusa. Prvi korak u tom pravcu je istraživanje dostupnih procesa formiranja meristematskih struktura i diferencijacije tkiva i organa, i sumiranje ekoloških parametara u njihovom toku posmatranom na algoritamskoj osnovi, a što je i bio predmet ovog proučavanja.

Proučavanje ciklusa organogeneze trešnje koje je sprovedeno u ovom radu, u delu vezanom za **diferencijaciju generativnih pupoljaka** imalo je za cilj generalno da se ustanovi regularnost toka ciklusa u njegovom početnom delu (III–V etapa), kao i stepen sinhronizovanosti procesa na nivou osnovne jedinice–rodnog pupoljka. Ispitivanje dinamike i toka pojedinih etapa organogeneze, u smislu početka i trajanja pojedinih mikrofenofaza u ovim istraživanjima bila je usmerena prevashodno na procese mikro i makro sporogeneze i gametogeneze, kao najosetljivijih etapa u

reproduktivnom ciklusu voćaka. U tom smislu izvršena je i ocena uticaja faktora spoljne sredine (temperature, padavina, oglednih godina) kao i genotipova u ogledu na pomenute procese.

Sveukupno gledajući, ekološki faktori bitno određuju tok i dinamiku procesa organogeneze kod trešnje (Sl. 69.), s obzirom na temperaturnu uslovljenost odvijanja fenofaza u biljnom svetu. Kako ističu Fadon et al. (2015), s obzirom na to da trešnja kao vrsta ima veće potrebe za temperaturama nižim od 7 °C, kod nje su često prisutni kolebljivi prinosi, što je zapravo posledica izmenjenog toka fenofaza. Ovo je naročito slučaj kada se ova voćka, koja je prilagođena umereno kontinentalnoj klimi sa umereno niskim zimskim temperaturama, gaji u hladnijim ili toplijim regionima van tradicionalnih područja gajenja. Izmenjene fenofaze i problemi sa zametanjem ploda prisutni su i u tradicionalnim trešnjarskim regionima, što se tumači kao direktan uticaj globalnog otopljanja na reproduktivnu sposobnost trešnje.



Sl. 68. Godišnji ciklus rasta i razvića kod sorti Burlat i Bing uklopljenih u glavne fenofaze po BBCH skali rasta i razvića u Saragosi. Srednje nedeljne temperature (2012-2013) prikazane su kao kontinuirana linija, a fotoperiod kao isprekidana linija (izvor: Fadon et al., 2015)

Fenološki gledano, razvoj cveta svakako je vremenski najduži proces u godišnjem ciklusu rasta i razvoja trešnje, i proteže se kalendarski čak u dve godine. Diferencijacija cvetnih pupoljaka vidljiva na mikroskopskom nivou započinje sredinom leta, kada mladari prestanu s rastom (kraj II c1 podetape) usled pada koncentracije hormona rasta (auksina), i proteže se do kraja vegetacije i otpadanja lišća. Tokom mirovanja začeci cveta prestaju s razvojem, koji je došao do nivoa vidljivih začetaka perijanta kao i primordija muškog i ženskog sporofita. Pomenuti proces razvoja cveta svakako je najosetljiviji na globalne klimatske promene, počev od negativnog uticaja visokih letnjih temperatura na početne etape organogeneze do uticaja istog spoljašnjeg faktora na završne etape

mikro– i makrogametogeneze, koji često dovodi do nesinhronog razvoja različitih organa cveta u rodnom pupoljku.

Najveći paralelizam i sinhronizacija u diferencijaciji tkiva između više istoimenih organa prisutni su u početnim etapama razvoja generativnih pupoljaka kod vrsta iz roda *Prunus*, kako to pokazuju rezultati ispitivanja organogeneze kod šljive (Mičić i Čmelik, 1988). Proučavajući ovaj proces kod dve sorte različitog perioda cvetanja i plodonošenja, autori su konstatovali značajan uticaj temperatura vazduha i ranostasnosti genotipova na raniji početak i brži tok ranih (III–V) etapa organogeneze, ali i negativnu pojavu abortiranja pupoljaka u generativnom programu diferencijacije pod uticajem loše agrotehnike. Ovaj prekid organogeneze doveo je do laganog zaostajanja u porastu pomenutih pupoljaka, ali su oni masovno otpadali sa rodni grančica tek narednog proleća, tokom intenzivnih etapa razvića (mikrofenofaze zelenih glavica i belog balona). Pomenuta pojava direktno je uticala na poremećaj odnosa u brojnosti vegetativnih i generativnih pupoljaka u kruni, i bila je izraženija kod poznijeg genotipa (Požegača) u ogledu u odnosu na raniju sortu (Altanova renkloda). S obzirom da kod šljive organogeneza teče paralelno sa drugim talasom intenzivnog rasta ploda (porast mezokarpa) i da su ova dva procesa međusobno konkurentska u pogledu resursa hrane (biljnih asimilativa), ne iznenađuje što je abortiranje pupoljaka bilo izražajnije kod poznije sorte jer je kod nje pomenuti konkurentski odnos duže trajao.

Uvidom u fotodokumentaciju vezanu za odvijanje ranih etapa organogeneze kod rodni pupoljaka trešnje u Padinskoj Skeli (2013–2015), može se sa sigurnošću konstatovati uobičajen, sinhronizovan i sukcesivan tok diferencijacije na nivou osnovne jedinice rodnosti (rodnog pupoljaka u nastanku) kakav je prisutan i kod ostalih vrsta koštičavih voćaka. Ovo je donekle i očekivano, s obzirom da pomenute etape organogeneze vremenski pokrivaju one delove vegetacije u kojima ne postoje kompeticijski odnosi za asimilativima, kao što je to bio slučaj u gore pomenutim istraživanjima. Razlike u početku i dinamici toka ranih etapa razvića generativnih pupoljaka među sortama su verovatno i bile prisutne, ali one nisu bile evidentirane na vremenskoj skali u ogledu, kako je već spomenuto u uvodu. Kako ističe Ninkovski (1998), vreme prelaska iz vegetativne u generativnu fazu diferencijacije cvetnih pupoljaka kod trešnje se dešava nešto ranije u odnosu na višnju, a naročito kod ranih sorti, i ovaj početak je obeležen pojavom minimalnih padavina i visokih srednjih dnevnih temperatura (početak–sredina jula). Zapažena je i određena zakonomernost u pojavi primordija organa cveta: začeci čašice se pojavljuju posle obilnih padavina, a začeci tučka-posle obilnijih padavina i sniženja temperature. Do pojave primordija plodnika prođe 67–90 dana od pojave promena na meristemskom konusu, tj. 70–100 dana posle cvetanja ili 10–45 dana posle berbe, u zavisnosti od srednjih dnevnih temperatura u periodu početak cvetanja-početak diferenciranja pupoljaka.

Dinamika diferencijacije cvetnih pupoljaka kod tri sorte trešnje bila je praćena i u kolekcionom zasadu Poljoprivrednog instituta u Skoplju u periodu 1993–1995 (Popovska M. i Popovski B. 2000). Fokus je bio na praćenju procesa cvetanja i zrenja ploda, kao i uticaja vremenskih prilika na početak, dinamiku i dužinu trajanja pojedinih etapa organogeneze. U uslovima izražajne suše tokom 1994. godine (svega 220 mm vodenog taloga tokom vegetacije) ispitivane sorte, među kojima je bila i Stela, započele su III etapu krajem juna meseca. Suša je ubrzala početak ali je usporila dinamiku diferencijacije u ovoj oglednoj godini, za razliku od 1995. (650 mm godišnjeg i 318 mm vegetacionog vodenog taloga) u kojoj je početak III etape bio odloženiji ali sa ubrzanom dinamikom mikrofenofaza do kraja vegetacije. Autori su odredili vrednost srednjih dnevnih temperatura (24–25° C) u nedelji koja predhodi cvetanju kao ključne za nastavak procesa diferencijacije pupoljaka u proleće, ali je istaknuto da je sam početak navedenog procesa sortna osobina koji ne zavisi od vremena cvetanja i plodonošenja ispitivanih sorti. Dužina trajanja perioda od cvetanja i zrenja do početka sledećeg ciklusa organogeneze, kada sorte zadovoljavaju svoje potrebe za sumama aktivnih temperatura (onih iznad 6° C, koju su autori definisali kao biološku nulu), bila je gotovo identična u oglednim godinama i u vezi je sa dovoljnom količinom padavina (prosečno 130–140 mm vodenog taloga) za otpočinjanje novog ciklusa razvika rodni pupoljaka. Autori su definisali najraniji početak diferencijacije ali i osetljivost sorte Pobeda Krimska na sušu koja je bila povezana sa prekidom diferencijacije pupoljka neposredno pre pojave čašičnih udubljenja (V a podetapa) u oglednim godinama, kao i izraženu usporenost dinamike toka organogeneze tokom sušne 1994. Ova sorta inače je najkasnije cvetala u ogledu, a berba plodova joj je bila kao i kod druge ogledne sorte Stela (četvrta nedelja trešnje).

Uvidom u kretanje padavina tokom oglednog perioda na lokaciji Padinske Skele (2013–2015) može se uočiti prosečno veća suma padavina tokom oko tri meseca (april–jun), koji pokrivaju period od početka cvetanja do početka diferencijacije pupoljaka po generativnom programu (uobičajeno početkom jula u Srbiji). Te sume za ogledne godine iznosile su oko 190, 410 i 170 mm, po redu i očigledno da su umnogome doprinele normalnom proticanju ranih etapa organogeneze kod sorti trešnje u ogledu.

Dvogodišnje praćenje dinamike diferenciranja generativnih pupoljaka kod još jedne vrste iz roda *Prunus* (*badem*), koji inače predstavlja najtolerantniju vrstu voćaka na sušu bila je izvedena u agroekološkim uslovima Beške (Keserović, 1994), koji su bili slični onima na lokaciji ogleda u Padinskoj Skeli. Praćene su rane etape embriogeneze, počevši od pojave zaravni na meristemskoj kupi do obrazovanja primordija tučka (kraj vegetacije), uz praćenje uticaja vremenskih prilika na sam tok ciklusa putem upotrebe hidrotermičkog koeficijenta obračunatog na mesečnom nivou.

Rezultati su pokazali velika odstupanja u vrednostima pomenutog koeficijenta u oglednim godinama, a naročito tokom protoka pojedinih etapa organogeneze. Čak ni ispitivane sorte badema nisu ostale imune na uticaj različitih vremenskih prilika u oglednim godinama, iako se za badem može reći da ima dosta konstantan tok diferenciranja cvetnih začeta. Kišni period tokom avgusta 1985. usporio je proces diferencijacije pupoljaka, dok je suša u istom periodu 1984. ubrzala procese diferencijacije. Za badem se generalno može istaći da ima evolutivno stečenu otpornost prema suši, jer manjak vlažnosti nije mnogo uticao na tok organogeneze pa ni na prekid ili zastoje pojedinih njenih etapa. Autor je konstatovao kako je početak III etape organogeneze kod badema uslovljen prisustvom određenih srednjih dnevnih temperatura ($15,7\text{--}21,3^{\circ}\text{C}$) u dekadi pre početka diferencijacije, kao i da su najbržu diferencijaciju ostvarili pupoljci u vršnoj i donjoj trećini mešovite grančice dok su se najsporije diferencirali pojedinačni cvetni pupoljci u srednjoj trećini grančica.

U poređenju sa iznetim, sorte trešnje u ogledu pripadaju vrsti koja nije tolerantna na sušu, pa stoga ne sme ostati bez neophodnih količina vode u zoni korena ni najkraće vreme. Ovo važi kako za slabo bujne tako i za bujne podloge trešnje, ali ne i za magrivu čije je prirodno stanište u Srbiji–Deliblatska peščara. S obzirom na tip podloge u ogledu (divlja trešnja) koja je naročito pogodna za gajenje trešnje na teškim i prevlaženim zemljištima jasno je da je kombinacija povoljnih vremenskih prilika, koje su pojedinih godina bile ekscesne po pitanju padavina (2014), i adekvatne podloge bila odlučujuća za neometano odvijanje godišnjeg ciklusa rasta i razvoja kod sorti trešnje u ogledu.

Sam kraj V etape organogeneze u rodnim pupoljcima ispitivanih sorti trešnje u ogledu obeležila je relativna neujednačenost u pogledu stepena pokrivenosti primordija muškog i ženskog sporofita sa pokrovnim listićima, i to od nedovoljne i neujednačene (Burlat) do dobre i ujednačene (preostale sorte u ogledu). Takođe, mikrofotografije histoloških preseka rodni pupoljaka neposredno pred početak zimskog mirovanja ukazuju na proandrični tip diferencijacije muških u odnosu na ženske elemenata cveta. Intenzivna obojenost i visok stepen diferenciranosti primordija budućih antera upućuje na pripremljenost za u mejotičku deobu, dok je u plodniku kvržica pronucelnog tkiva tek ponegde formirana.

U literaturi se mogu naći različiti podaci o dužini trajanja zimskog mirovanja kod trešnje. Stanković (1981) navodi kako trešnja ima dugo i stabilno zimsko mirovanje koje traje 45–60 dana, a za pokretanje pupoljaka u proleće potrebno je od 1000 do 1300 h sa temperaturama manjim od $7,2^{\circ}\text{C}$. Već u drugoj polovini decembra skinute rodne grančice trešnje u sobnim uslovima mogu procvetati za 30 dana. Faust (1989) navodi kako su potrebe voćaka za hladnoćom različite i kreću se kod višnje u intervalu 600–1500 h, a kod trešnje 500–1300 h, što ukazuje na velika variranja u

okviru vrste. Faust dalje navodi kako tokom mirovanja dolazi do akumulacije inhibitora (ABA) u pokrovnim listićima pupoljaka, koji sprečavaju obnovu rasta i drže pupoljke u stanju mirovanja. Potrebe za hladnoćom moraju biti zadovoljene pre nego što koncentracija ABA u tkivu opadne, a proces mejoze u lokulama antera bude primećen. Tada stabla traže duži ili kraći period sa višim temperaturama pre nego što formalno obnove procese razvića.

U ispitivanju prolećnog nastavka organogeneze trešnje (**mikrosporogeneza i formiranje polena**) kod tri ispitivane sorte u Padinskoj Skeli (2013–2015) kao fiziološki aktivne temperature računane su sve one koje su bile veće od biološke nule (5° C). Početak vegetacije vezan je sa nastupanjem procesa mikrosporogeneze kod ispitivanih sorti trešnje u Padinskoj Skeli (2013–2015). Proces je bio obeležen intenzivnom diferencijacijom ćelija budućeg sporogenog tkiva arhesporijuma, lociranog u lokulama antera. Gotovo istovremeno, zabeleženi su i intenzivni procesi deobe ćelija u okviru tkiva zida antere. Dalji tok diferencijacije ova dva osnovna tkiva u lokuli antere teče u odvojenim pravcima koji su u potpunosti međusobno sinhronizovani u pojedinim fazama mikrosporogeneze, što upućuje na njihovu ontogenetsku povezanost.

Pregledom literature konstatovana je skromna arhivska građa vezana za opis kompletnog toka mikrosporo- i gametogeneze, i ona je bila vezana za malobrojne vrste voćaka, ali ne i za trešnju. U detaljnom proučavanju procesa mikrosporogeneze kod šljive, Mičić (1988 i 1989) ističe neophodnost integralnog pristupa u posmatranju jedinstvenih i međusobno povezanih histomorfoloških promena u lokuli i u zidu antere, s obzirom na značaj koji tapetum (unutrašnji sloj ćelija zida antere) ima za opstanak novonastalih mikrospora. U istraživanjima, koja su bila obuhvaćena i prikazana i u magistarskoj i doktorskoj tezi, autor daje odgovore na pitanja o samom fiziološkom tipu tapetuma (*sekretorni*), tipu mejotičke deobe kojem podležu ćelije arhesporijalnog tkiva u procesu nastanka tetrada (*simultani*), kao i o tipu rasporeda mikrosporocita u tetradama (*tetraedaran tip*). Pomenuta tipologija u sva tri pomenuta procesa utvrđena je i u ispitivanju mikrosporogeneze trešnje u Padinskoj Skeli (2013–2015) po prvi put, što predstavlja jedan novi kvalitet u pomološkim istraživanjima kod ove vrste. Ostale sličnosti, poput nastanka i resorpcije međusloja u zidu antere paralelno sa odvijanjem druge reukcione deobe, prisustvo dvojne endomitoze u ćelijama tapetuma koja u jednom trenutku postaje dominantan proces u mikrosporogenezi, i za kojim dolazi Profaza I prve mejotičke deobe koja se odvija asinhrono u materinskim ćelijama polena, uz sinhronizovane procese razgradnje sloja tapetuma praćenih izlivanjem protoplazmatičnog sadržaja u lokulu antere u delikatnom trenutku raspadanja tetrada i dobijanje mladog polena dvojnou mitotičkom deobom (*Sl. 37–46.*) potvrđuju identičnost procesa mikrosporogeneze trešnje sa ovim procesom kod jabuke, kruške, kajsije, šljive...

Ukoliko posmatramo dužinu trajanja proučavanih mikrofenofaza u organogenezi trešnje na vremenskoj skali i u pogledu sume aktivnih temperatura koje su potrebne od početka mikrosporogeneze do pojave mladog polena kod ispitivanih sorti (**Tab. 2.**), generalno se može zaključiti kako je sortama bilo potrebno oko 14–15 dana u rano proleće za obavljanje ovih procesa, s prosečnim zbirom sume aktivnih temperatura na nivou ispitivane vrste od 204° C. Gledano po sortama, oscilacije su bile izražajnije:

- Kod sorte Burlat ovi procesi bili su obavljeni za 20, 15 i 9 dana po redu za ogledne godine (sa zbirnim sumama aktivnih temperatura od 187, 207 i 217° C, po godinama po redu);
- Kod sorte Stela to je obavljeno za 19, 18 i 9 dana u oglednim godinama, po redu (sa zbirnim sumama aktivnih temperatura od 200, 199 i 194 °C);
- Kod Drozanove žute procesi mikrosporo- i gametogeneze su obavljeni za 15, 19 i 12 dana, po redu (sa pripadajućim zbirnim sumama aktivnih temperatura od 197, 221 i 216° C).

Iznete konstatacije i zaključci koji se iz njih mogu izvesti, podudarni su sa zapažanjima o kretanju suma aktivnih temperatura (**Tab. 3.**) u oglednom periodu:

- Sorta Burlat je za nijansu sporije prolazila kroz prve dve mikrofenofaze u mikrosporogenezi, ali je taj trend bio dijametralno suprotan kada se radi o brzom prolasku kroz fazu tetrada. Naime, raspon aktivnih temperatura koje su vodile kroz ovu mikrofenofazu bio je 3-4 puta veći od istog kod ostalih sorti u ogledu. Ovaj trend je zadržan i u narednoj mikrofenofazi u odnosu na sortu Stela, ali ne i u odnosu na najpoznocvetniju sortu u ogledu (Drozanova žuta);
- U pogledu zbirne sume aktivnih temperatura rodni pupoljci sorte Stela su najbrže prošli kroz pomenute mikrofenofaze mikrosporo- i gametogeneze, s obzirom na to da je ova sorta izvesno prednjačila po brzini proticanja prve dve pomenute mikrofenofaze. Ovaj trend se donekle usporio u fazi tetrada, ali je opet izveden na put najbržeg protoka tokom pomenute faze mikrogametogeneze;
- Sorta Drozanova žuta kao najpoznocvetnija u ogledu neprimereno brzo je ušla u proces mikrosporogeneze, sa oko 3 puta većim rasponom suma aktivnih temperatura na nivou ogledne godine u odnosu na ostale sorte u ispitivanju. Isti trend primećen je i u fazi formiranja mladog polena, što je zajedno sa gore pomenutim višestruko većim opsegom aktivnih temperatura kod sorte Burlat (tetrade u mikrosporogenezi)-najsignifikantnije obeležje u ogledu.

Dobijeni rezultati pokazali su kako je redosled etapa u ciklusu organogeneze kod ispitivanih sorti nepromenljiv, što upućuje na njegovu genetsku kontrolu na nivou vrste. Razlike među sortama

koje su bile prisutne u oglednom periodu u Padinskoj Skeli odnosile su se na dinamiku nastupanja i na vreme trajanja određenih mikrofenofaza. Najizražajnije promene u dinamici organogeneze pod snažnim su uticajem ekoloških faktora (vremenskih prilika) ali i zaključnog stepena diferenciranosti cvetnih pupoljaka pred ulazak u period mirovanja. Ovo sveukupno doprinosi pojavi da pri istim ekološkim uslovima različite sorte pokazuju različitu dinamiku odvijanja pojedinih etapa organogeneze. Mičić (1993) je u analizi uticaja vremenskih prilika na tok organogeneze šljive primetio nekoliko pravilnosti:

- Kasnija pojava aktivnih temperatura (hladniji početak proleća) odlaže cvetanje, a različito vremensko trajanje u pojedinim godinama (period zelena glavica–cvetanje) posledica je različitih temperatura u tom periodu;
- Ujednačeniji trend visokih aktivnih temperatura i veći početni uspon trenda temperatura dovodi do ranijeg cvetanja, dok položenija linija trenda (ujednačene umerene temperature) prolongiraju cvetanje;
- Sušni i topliji uslovi posleđično ubrzavaju organogenezu.

Autor na kraju zaključuje kako su brojni faktori koji menjaju tok organogeneze šljive (sorta, podloga, rodnost, agrotehnika), te stoga ovaj proces mora biti biološki kontrolisan svake godine. Szalay L. (2006) u uporednim proučavanjima organogeneze kod badema, kajsije i breskve ovaj spisak faktora uticaja proširuje i na starost i zdravstveno stanje stabla, gustinu i raspored pupoljaka na prirastima, odrvenelost tkiva grančica, primenjenu tehnologiju gajenja kao i na nivo oštećenja od napada patogeni. U ispitivanjima su otkrivene značajne razlike u etapama razvoja mikrosporogeneze i to ne samo između vrsta i sorti već i između različitih tipova rodni grančica sa istog stabla. Ovo poslednje bilo je uzrokovano različitim potrebama rodni drveta za *chilling jedinicama* (temperaturama ispod 7° C). Kod badema je kraj arhesporijalnog stadijuma najpre bio evidentiran u cvetnim pupoljcima na kratkim rodni grančicama, bez obzira na genotip (kraj novembra–početak decembra) dok se na dugim rodni grančicama ova etapa desila mesec dana kasnije. Isti genotipski kod, kada je u pitanju bio razvoj materinskih ćelija polena između različitih tipova rodni drveta bio je prisutan i kod kajsije, sa 20 dana odloženijom etapom na dugom rodni drvetu u odnosu na kratke grančice. Ipak u fazi tetrađa razlike su bile manje između pomenutih kategorija rodni drveta kajsije nego što je to bio slučaj kod badema. Među ispitivanim sortama breskve razlika u stopi razvoja cvetnih pupoljaka na različitim kategorijama rodni drveta bila je najmanja i iznosila je 8–10 dana. Autor je konstatovao kako su se pupoljci na kratkom rodni drvetu razvijali najvećom brzinom, kako im je period biološkog mirovanja bio kraći za 15–20 (30) dana, dok su datumi cvetanja prednjačili svega 2–3 dana u odnosu na pupoljke na dugom

rodnom drvetu. Autor je naveo i zaključak iz ranijih sopstvenih ispitivanja, kako je sporiji ritam mikrosporogeneze u bliskoj korelaciji sa otpornošću tkiva cvetnih pupoljaka na mraz.

Ispitivanje klijavosti polena kod sorti trešnje u Padinskoj Skeli (2013–2015) pokazalo je varijabilnost ovog obeležja, koje je u najvećoj meri bilo je određeno uticajem vremenskih prilika i genotipova u ogledu. Kao što se može zaključiti iz klima dijagrama (2013-2015) period pred cvetanje ispitivanih sorti u 2013. i 2015. bio je obeležen i umereno toplim vremenom sa manje padavina, koje je izgleda naročito pogodovalo genotipovima koji su imali nešto odloženije i prolongiranije cvetanje (Stela i Droганova žuta). S druge strane, obilne padavine i nešto hladnije vreme u 2014. godini bile su prisutne sredinom marta, tokom završnih etapa mikrogametogeneze. Kako navode Radičević i sar. (2011), iako regularnost odvijanja procesa mikrosporogeneze jeste u direktnoj vezi sa vitalnošću i klijavošću polena *in vitro*, kao i da postoji značajan nivo pozitivne korelacije u rastu polenovih cevčica *in vitro* i *in vivo* uslovima kod trešnje, u ogledima i u proizvodnji poznate su pojave variranja klijavosti polena po godinama. Jedan od izvora varijabilnosti mogu biti i sami temperaturni uslovi prisutni tokom naklijavanja. Ispitivanje klijavosti polena u *in vitro* uslovima kod višnje (Milatović i Nikolić, 2014) ukazala su na značajan uticaj temperature. Autori su dobili visoku klijavost polena (50–70%) pri temperaturama od 15° C i 25° C, dok je takođe zadovoljavajuća klijavost polena (42–51%) dobijena i na temperaturi od 5° C kod nekih sorti. Uticaj temperature je bio znatno više izražen na rast polenovih cevčica u odnosu na klijavost polena. Naime, dužina polenovih cevčica je bila tri do šest puta veća na temperaturama od 15° C i 25° C u poređenju sa varijantom od 5° C. Na osnovu dobijenih rezultata autorski zaključak je kako niže temperature mogu biti dovoljne za klijavost polena, ali su nedovoljne za optimalan rast polenovih cevčica. U ispitivanjima biologije oplodnje višnje (Cerović, 1997) autor navodi kako su hidratacija polena, aktivacija i sinteza enzima osnovni inicijalni faktori procesa klijanja polena. Inicijacija, koja prethodi klijanju odlikuje se visokom stopom respiracije, aktivnošću mitohondrija i ubrzanim korišćenjem rezervnih hranljivih materija u polenu, praćenih povećanjem površine unutrašnjih membranskih sistema koji su u funkciji formiranja plazma membrana i zida buduće polenove cevčice. Navedeni i dr. procesi programne faze (inicijacija i klijanje polenovog zrna, kao i rast polenovih cevčica u stubiću) prate metabolički procesi koji su enzimski determinisani, a na aktivnost enzima, pored ostalih faktora bitno utiče i temperatura. Drugi relevantni faktor su oprašivači, koji značajno utiču na ispoljavanje različitih kvantitativnih osobina rasta polenovih cevčica, a to je posledica njihove adaptibilnosti na različite temperaturne uslove. Kao zaključak, izvedeno je postojanje bliske veze enzimskih procesa i genotipske osnove sorti, na relaciji odnosa genotip-temperatura. Analizirajući *in vitro* klijavost polena kod 16 sorti trešanja na dve različite lokacije u sklopu projekta analize uticaja globalnog zagrevanja klime na gajenje trešnje u Španiji Balas et al. (2017) su konstatovali dvostranu varijabilnost klijavosti, najpre kod različitih sorti na

istoj lokaciji a potom i različitu klijavost kod iste sorte na dve različite lokacije (tradicionalno trešnjarsko područje Španije u dolini Jerte i znatno toplija i suvlja lokacija južnije u Valdesequeri). Ispitivanja su pokazala izvestan uticaj temperature na kinetiku rasta polenovih cevčica, zajedno sa snažnom interakcijom sorta–temperatura, koja može biti povezana sa geografskim poreklom donora polena i njegovom adaptibilnošću na preovlađujuće uslove spoljašnje sredine. Iako su kod pojedinih sorti na obe lokacije dobijeni poražavajući rezultati (npr. Lapins sa klijavašću polena od 1,3 i 0,0 % ili Erli Lori 0.5 i 5, 4 %), a kod nekih nešto bolji (Sanberst-28,9 i 24,3 %, po redu), autori su izdvojili par genotipova ('7-91-C', 'Celeste' 'Sweetheart' and 'Van') koji su na obe lokacije imali najveću klijavost polena od preko 30 %. Takođe je konstatovano kako izvedeni *in vitro* testovi naklijavanja polena u uslovima sobne temperature nakon 24–84 h ne mogu pokazati koji od faktora poput temperature, zračenja, relativne vlažnosti vazduha, zemljišta, hemikalija, i dr. utiču na vitalnost polena u najvećem stepenu. Rezultati ispitivanja klijavosti polena u ogledu sa trešnjama u Padinskoj Skeli (2013-2015) bili su mnogo bolji u odnosu na pomenuta istraživanja u Španiji, i u nivou su sa rezultatima klijavosti polena trešnje (37–51 %) koji su ostvareni u ogledima u centralnoj Srbiji (Radičević i sar., 2008).

Nastavak ciklusa organogeneze trešnje u pupoljcima u otvaranju sve do punog cvetanja i oplodnje zapravo obuhvata VII–IX etapu i odnosi se na procese **makrosporo- i gametogeneze kao i progamnu fazu sa singamijom** u ogledu sa tri sorte trešnje u Padinskoj Skeli (2013-2015) takođe je praćena mikroskopski, uz analizu uticaja vremenskih prilika na početak i tok pomenutih etapa. Razvoj ženskog sporofita (makrospora) i gametofita (embrionove kesice) kod trešnje odvija se u semenom zametku (makrosporangiji) kod koga se uočava standardni tok diferencijacije tkiva njegovih integralnih delova (nucelusa, integumenata, funikulusa). Oba integumenta su čvrsto spojena i teško međusobno uočljiva, čineći oko tkiva nucelusa jedan uniformni omotač sa preko 10 slojeva ćelija koji su jedino rastavljeni u zoni mikropile (Sl. 51.). Kod trešnje, kao i kod ostalih predstavnika roda *Prunus*, semeni zameci su pričvršćeni za karpelu plodnika pomoću funikulusa i u anatropnom su položaju. U funikulusu je uočen veći provodni snopić, koji ide do halaznog dela gde se grana na snopiće koji su zaduženi za snadbevanje nucelusa i integumenata sa hranljivim materijama. Prisustvo po dva semena zametka približne veličine, kod trešnje kao i kod višnje, vezan je zaključno sa fenofazom balona, da bi već tokom punog cvetanja započela atrofija jednog od njih. Do kraja ove fenofaze degeneracija je potpuna, čime se oslobađa dovoljno prostora za normalni razvitak drugog semenog zametka u lokuli plodnika. Početak makrosporigeneze teče pre fenofaze balona i putem mejotičke deobe dovodi do formiranja četiri makrospore u fazi tetrada (mikropilarni pol), koje imaju linearni raspored (Sl. 52 i 53). Pojava da samo najdonja ćelija tetrada opstaje i da se od nje putem niza mitotičkih deoba u procesu makrogametogeneze formira

osmojedarna embrionova kesica, nakon čega sledi funkcionalno citološko organizovanje dobijenih elemenata u normalni osmojedarni stadijum tipična je odlika monospornog *Polygonum* podtipa embrionove kesice, koji je široko rasprostranjen kod voćaka. Pojava vakuola predstavlja početak funkcionlnog citološkog organizovanja jajnog aparata, koji sledi tipičnu i opšte poznatu matricu: na mikropilarnom polu jajna ćelija svojim užim krajem je okrenuta ka mikropili a svojim širim krajem neznatno nadkriljuje sinergide (Sl. 57). Svi pomenuti elementi poseduju krupne vakuole. Dva polarna jedra zauzimaju središnji deo između jajnog aparata i antipoda i naknadnim spajanjem daju centralno jedro u ekvatorijalnoj ravni, neposredno pred oplodnju (Sl. 57). Antipodalni kompleks na halaznom polu primtan je samo u ranim fazama punog cvetanja i on se vrlo brzo degeneriše. Često je moguće uočiti samo dve ili nijednu antipodu na halaznom polu (Sl. 57, 59).

Ukoliko posmatramo dužinu trajanja proučavanih mikrofenofaza u organogenezi trešnje na vremenskoj skali i u pogledu sume aktivnih temperatura koje su potrebne za odvijanje procesa, počevši od početka makrosporogeneze do pojave konstituisanog jajnog aparata kod ispitivanih sorti trešnje u Padinskoj Skeli (**Tab. 4.**), generalno se može zaključiti kako je sortama bilo potrebno prosečno oko 46 dana sa prosečnom sumom aktivnih temperatura od 502 °C. Variranja su bila prisutna kod sorti u različitom stepenu:

- Kod sorte Burlat pomenute makrofenofaze su se odvijale u rasponu od 47, 49 i 38 dana dana, po redu dok su potrebne sume aktivnih temperatura iznosile 463, 489 i 449° C;
- Sorta Stela je imala manju oscilaciju u proticanju fenofaza, s obzirom da su se one odvijale za 50 (2013 i 2014. godina) i 41 dan, dok su sume aktivnih temperatura iznosile 511, 481 i 498° C;
- Sorta Drojanova žuta, kao najpoznocvetnija imala je umereno variranje obeležja, a makrosporo- i gametogeneza su protekle za 50, 48 i 42 dana, odnosno nakon nakupljanja 522, 536 i 571° C sume aktivnih temperatura;
- Posmatrane fenofaze u ogledu najranije su se odvijale u 2014., a najkraće trajale u 2015. godini.

U pogledu kretanja sume aktivnih temperatura tokom dve zabeležene makrofenofaze kod sorti u ogledu koje su pratile pomenute procese u konstituisanju ženskog gametofita, interesantna su bila dva momenta:

- Sorta Stela je vrlo brzo prošla kroz fenofaze belih glavica i punog cvetanja, a da je pritom raspon suma aktivnih temperatura neophodnih za proticanje fenofaza bio ubedljivo najveći i najmanji u ogledu (18,3° C za bele glavice i 12,1° C za puno cvetanje);

- Sorta Burlat je, s druge strane, najbrže u ogledu prošla kroz fenofazu punog cvetanja, a da je pritom raspon suma aktivnih temperatura bio gotovo dva puta veći u odnosu na ostale sorte (29,3° C).

Promenljivost dinamike organogeneze pod dejstvom unutrašnjih i spoljašnjih faktora nisu retka pojava ni kod drugih vrsta iz roda *Prunus*. (Mičić, 1993) navodi kako su vremenske prilike bile odgovorne za različitu dinamiku organogeneze kod sorti šljive u ogledu: ni kod jedne od ispitivanih sorti nije došlo do preklapanja praćenih fenofaza, a trendovi ranije ili kasnije pojave aktivnih temperatura direktno su uticali na početak i tok fenofaze cvetanja. Posmatrajući trend pojave aktivnih temperatura u oglednim godinama (2013–2015) u Padinskoj Skeli može se zaključiti kako su one tokom marta meseca bile prisutne u 14 i 21 dnevnom terminu u 2013. i 2015. godini po redu, dok su svi dani sem jednog termina u 2014. imali prisutne aktivne temperature. Ovo je direktno uticalo na raniji početak punog cvetanja u 2015. u odnosu na 2013. godinu, dok je u 2014. godini posmatrana fenofaza otpočela 15–18 dana ranije kod sorti u ogledu. S druge strane, iako je poznato da sušni i topliji uslovi mogu ubrzati tok organogeneze, u ovom ogledu to nije bio slučaj. Pojava kratkotrajne suše početkom aprila (klima dijagrami 2013. i 2015.) u dve ogledne godine nije bitnije ubrzala proticanje cvetanja u odnosu na 2014. godinu, u kojoj su aktivne temperature bile dominantni spoljašnji faktor koji je vodio IX etapu organogeneze.

Negativan uticaj visokih temperatura česta je pojava u uslovima Mediteranske klime i on direktno može prouzrokovati anomalije u diferencijaciji ženskog gametofita. Ruiz et al. (2010) su analizirajući ovaj fenomen kod više sorti japanske šljive (*Prunus salicina* Lindl.) autori su konstatovali odložen razvoj semenih zametaka tokom cvetanja. Visoke temperature pred cvetanje proizvele su odsustvo sinhronizovanosti između spolja manifestovanih fenofaza i etapa razvitka embrionove kesice, koje su bile odložene. Pojava embrionovih kesica zaostalih u razvoju direktno je uticala na pogrečno vođenje polenove cevčice pre njegov prodora u mikropilu, što je dovelo do odsustva oplodjenja. Oscilirajuća rodnost Santa Rose, jedne od najvažnijih sorti japanske šljive u Španiji usled anomalija nastalih izrazito odloženim razvojem semenog zametka još jednom je potvrdila dominantan uticaj ekoloških faktora nad genetički determinisanim razvojem makrosporangije i oplodnjom, kako je to već zabeleženo i kod kajsije i badema.

Potencijalna rodnost je jedna od osobina koja određuje gornju granicu zametanja plodova i koja često zavisi od broja normalno razvijenih ženskih generativnih organa. Rana degeneracija embrionove kesice i suviše kratak period vitalnosti jajnog aparata pod uticajem visokih temperatura direktno utiče na rodnost jer dovode do abnormalnog kretanja polenove cevčice i odsustva oplodnje kod višnje (Cerović i Mičić, 1999). Pomenuti autori su konstatovali naročito poguban uticaj

temperatura u intervalu ulazak u puno cvetanje-oprašivanje, zajedno sa pojavom embriona. Tada je primećena degeneracija jajnog aparata ili cele embrionove kesice. Ovaj fenomen može biti direktno adresiran i na poreklo višnje kao vrste. Naime, *Prunus cerasus* L. je tetraploidna, i njen filogenetski razvoj kao vrste je uključivao genome različitih vrsta *Prunusa*. Nehomologost između sestrinskih hromozoma tokom mejoze dovodi do pojave degeneracije jajnog aparata u određenom stepenu: degeneracija je najpre primećena kod sinergida, zatim kod jajne ćelije i polarnih jedara. Takođe je primećena neregularna distribucija pojedinih elemenata jajnog aparata, ali samo na početku punog cvetanja. Jedan od faktora vitalnosti embrionove kesice kod višnje, dokazano je u ovim istraživanjima, može biti povezan i sa efektom procesa oprašivanja pri aktivaciji jajnika. Naime, rast i razvoj ženskog gametofita stimulisan je prisustvom kompatibilnih polenovih cevčica u stubiću. Autori na kraju navode i dr. moguće faktore, poput stresa usled neadekvatne ishrane ili faktora prirodne sredine tokom ranog razvoja ploda koji mogu dovesti do abortiranja embriona višnje, iako oni nisu dokazani u njihovom radu.

U poređenju s iznetim, ispitivanje organogeneze trešnje kod sorti u Padinskoj Skeli (2013–2015) nije kao rezultat uočilo anomalije u procesima makrosporo- i gametogeneze, verovatno i zbog toga što je trešnja filogenetski konstituisana kao vrsta na drukčijim osnovama u poređenju sa višnjom, o čemu je bilo reči u uvodnom delu ove teze. Ono što je, međutim, bilo evidentno na oglednoj lokaciji, a konstatovano je u prethodnim proširenim istraživanjima vezanim za ovu tezu jeste pojava ekološke sterilnosti na nivou pupoljka u prolećima sa većim kolebanjima temperature.

Kraj februara i početak marta meseca 2008. godine obilovao je visokim apsolutnim temperaturama od preko 15° C, što je svakako ubrzalo diferencijaciju rodnih pupoljaka i dovelo do otvaranja pokrovnih listića (2. i 3. serija pupoljaka, po metodici prikupljanja biljnog materijala za analizu) rodnih pupoljaka (Sl. 69. i 70.). Prilikom uzorkovanja pupoljaka u terminu 21.3., a nakon pojave mraza od -3,8° C u noći između 19 i 20. 3. i konstantnog mraza 20. i 21. marta, konstatovana su izmrzavanja rodnih pupoljaka i pojedinačnih cvetnih pupoljaka u njima. U momentu uzorkovanja najveći broj pupoljaka kod Burlata (*sorta 4.*) pripadao je 3. a potom i 4. seriji, kod Stele (*sorta 5.*) bilo je i 2. ali najviše 3. serije, dok su pupoljci Drozanove žute (*sorta 2.*) pripadali 2. seriji. Izmrzli pupoljci 3. i 4. serije su evidentirani u uzorcima sve do početka aprila, kako su se sukcesivno otvarali. Ipak, najveći procenat izmrzlih pupoljaka u ovom periodu zabeležen je u terminu 27.3. (**Tab. 5.**):

Tab. 5. *Izmrzlost cvetnih pupoljaka kod ispitivanih sorti u ogledu 27. marta 2008. godine*

SORTA	Izmrzli pupoljci (%)	Komentar
<i>Burlat</i>	28,94	Mnogo izmrzlih pupoljaka iz 3. serije, negde pojedinačni pupoljci, negde cela cvast
<i>Droganova žuta</i>	4,05	Izmrzli su i sitniji pupoljci 4. serije
<i>Stela</i>	28,03	Masovno izmrzli pupoljci 3 i 4. serije

Kao tipičan pokazatelj izmrzlosti cvetnih pupoljaka uočava se tamna boja kod stubića, plodnika i čašice (Sl. 71–73.). Očigledno je da je ubrzanje organogeneze rodni pupoljaka pod dejstvom aktivnih temperatura bilo izraženije kod sorti ranijeg cvetanja, pa su stoga njihovi pupoljci više i postradali od mraza. Ovakva izmrzavanja, međutim, uopšte nisu bila prisutna u martu mesecu u oglednom periodu s obzirom na odsustvo negativnih srednjih dnevnih temperatura. Česta kolebanja temperature krajem zime–početkom proleća u ravničarskim delovima regiona Beograda inače su gotovo redovna pojava, što ih čini agroekološki negostoljubivim za gajenje vrsta voćaka sa ranim cvetanjem, poput trešnje.



Sl. 69. *Pupoljci 3. serije u majskim kiticama*



Sl. 70. *3., 4. i 5. serija pupoljaka u ogledu*



Sl. 71. *Izmrzli cvetovi sorte Burlat;*

Sl. 72. *Izmrzli cvetovi sorte Stela*



Sl. 73. *Izmrzli cvetovi*

sorte Droganova žuta

Kako se može videti iz *Tab. 3. i 4.* konstituisanje jajnog aparata kod ispitivanih sorti trešnje teklo je tokom početnog cvetanja u oglednim godinama, dok je proces embriogeneze uočen kod sorte Burlat 15, 18 i 17 dana nakon punog cvetanja, redom po oglednim godinama. Kod sorte Stela pojava embriogeneze uočena je nakon 16, 17 i 17 dana što ukazuje na najuravnoteženiji tok singamije u ogledu. Kod sorte Droganova žuta proces oplodnje imao je najturbulentniji tok u oglednom periodu, jer je trajao 13, 14 i 18 dana, redom po oglednim godinama. Iako oplodnja nije bila praćena na nivou jajnog aparata, na pojedinim mikrofotografijama bilo je moguće uočiti zaostale niti deobnog vrtena kao i prisustvo/odsustvo jedara i krupnih vakuola. Pretpostavlja se da je embriogeneza nastupila odmah nakon dvojnog oplođenja i dobijanja zigota, a kasnije i sekundarnog endosperma. Zakonitosti u procesu embriogeneze, koji je inače genetički kontrolisan, mogu biti ubrzane ili usporene pod dejstvom ekoloških faktora kao i primenjene agro- i pomotehnike.

Proces embriogeneze podrazumeva i to da od integumenata semenog zametka i ostatka resorbovanog nucelusa postaje semenjača, dok koštica (*drupa*) nastaje od endokarpa oplodnog listića. Semenku koštunice, nastalu u XI etapi organogeneze obmotava metamorfozirani zid plodnika–perikarp sa svim svojim elementima (egzo-, mezo, i endokarp), nastalim u XII etapi, što zaokružuje proces obrazovanja fiziološki zrelog ploda. Endokarp čine kamene ćelije (sklereide) koje obrazuju košticu (*putamen*).

Deobom zigota nastaje klica (embrion), a paralelno sa odvijanjem rane embriogeneze započinje proces formiranja endosperma, najpre jedarnog a potom i ćelijskog. Tokom X etape organogeneze u ovom ogledu zaključno je konstatovana globularna forma embriona kao i ćelijski endosperm prisutan u haustorijalnoj plodnici (Sl. 67–68.), u procesu nastajanja sekundarnog endosperma.

8. ZAKLJUČCI

U ovom radu analiziran je ciklus organogeneze kod trešnje (*Prunus avium* L.), kao i genotipske specifičnosti u obrazovanju i funkcionalnoj sposobnosti muških i ženskih reproduktivnih organa kod tri sorte (Burlat, Droganova žuta i Stela) tokom trogodišnjeg oglednog perioda (2013–2015) u ravničarskom delu regiona Beograda (Padinska Skela). Na osnovu sprovedenih ispitivanja mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Agroekološki uslovi na lokalitetu gde je ogled postavljen, a na osnovu uvida u klimatološke podatke (**umereno kontinentalna** klima sa jesenjim periodom dužim od proleća, sa umerenim zimama i žarkim letima i srednjom godišnjom temperatutom 11,9° C kao i sa 678 mm vodenog taloga godišnje) ukazivali su na relativno povoljne vremenske prilike za gajenje trešnje u prvoj polovini godine. Pojava suše u periodu diferenciranja začetaka glavnih elemenata cveta (jul–septembar) ne predstavlja problem, s obzirom na odsustvo pokazatelja anomalija (plodovi blizanci) u letnjim fazama diferenciranja začetaka cvetova u pupoljcima u regionu Beograda. Vremenske prilike tokom oglednog perioda, a naročito u 2012. koja je prethodila prvoj oglednoj godini (2013) i u 2014. razlikovale su se od klimatoloških podataka za Beograd u pogledu veće količine padavina, koje su izgleda blagotvorno uticale na procese diferencijacije, i pored negativnog uticaja čestih sušnih perioda tokom leta (jul, avgust) u većini oglednih godina. Takođe, odsustvo mrazeva i većih kolebanja temperatura tokom završnih faza u konstutuisanju muških i ženskih reproduktivnih organa (mart i april) u oglednom periodu dopustili su da se pomenute etape organogeneze neometano prate u jednom kontinuitetu, što je omogućilo izvođenje adekvatnih zaključaka o samom procesu godišnjeg ciklusa rasta i razvoja kod trešnje. Generalno, pomenuta lokacija u pogledu agroekoloških uslova i sa stanovišta proučavanja organogeneze trešnje nije pogodna zbog učestalog prisustva mrazeva u proleće i suša tokom leta, čime je ugroženo dosta etapa u diferenciranju pupoljaka kod ove ali i ostalih ranocvetnih vrsta voćaka;
- Praćenje procesa diferenciranja generativnih pupoljka u ranim fazama organogeneze (III–V etapa) kod sorti trešnje u ogledu s ciljem uočavanja nepravilnosti, ali i sinhronizovanosti samog procesa na nivou pupoljka, pokazalo je kako su cvetni pupoljci u cvasti kroz ranije etape prolazile sinhronizovano, da bi u završnim fazama V etape bila uočena izvesna nesinhronizovanost i pojava različitih podetapa u diferencijaciji začetaka organa cveta. Generalno je ipak zaključeno kako se rane etape organogeneze kod rodni pupoljaka trešnje

u Padinskoj Skeli (2013–2015), odvijaju po uobičajenoj matrici godišnjeg ciklusa, sinhronizovano i sukcesivno, kako na nivou osnovne jedinice rodnosti (rodnog pupoljaka u nastanku) tako i na nivou osnovnih faktora varijabilnosti (sorti i godina). Pomenuta matrica podrazumeva početak širenja meristenskog vrha, potom njegovo snažno izdizanje u valjkastu formu čiji je vrh potpuno zaravnjen (osovina začetka cveta), a onda i formiranje udubljenja na zaravnjenom vrhu (primordija cvetne lože). Sledi potom diferencijacija primordija čašičnih listića u vidu perifernih nabora na okruglom meristemu osovine cveta, a potom i pojava pet nabora u unutrašnjem zidu cvetne lože (primordije kruničnih listića). Diferenciranje gornjeg i donjeg niza primordija antera, uočljivih kao deset i deset kvržica poređanih kolateralno na zidu cvetne lože, jedne ispod drugih uočava se ispod prethodno začetih primordija elemenata perijanta, nakon čega sledi pojava poluprstenastog nabora na dnu cvetne lože (primordije karpela). Završni procesi jesenjeg dela organogeneze najpre podrazumevaju razrastanje svih primordija začetaka cveta, da bi primordije perijanta počele da se potom naglo da se izdužuju i postepeno potpuno prekrivaju sve začetke organa. Zimski period rodni pupoljci trešnje dočekuju sa diferenciranim poluanterama u kojima su uočljive lokule, karpela nije srasla rubovima i ima elementarnu formu tučka sa začecima ovarijuma, stubića i žiga;

- Procesi mikrosporogeneze i gametogeneze praćeni na histološkom nivou pokazali su sinhronizovnost međusobno povezanih histomorfoloških promena u lokuli i u zidu antere, kada se radi o nastanku tapetuma (unutrašnjem sloju ćelija zida antere) i makrospora. Fotodokumentacija je jasno prikazala fiziološki tip tapetuma (*sekretorni*), tip mejotičke deobe kojem podležu ćelije arhesporijalnog tkiva u procesu nastanka tetrađa (*simultani*), kao i tip rasporeda mikrosporocita u tetradama (*tetraedaran tip*) koji nakon završene citokineze dovodi do obrazovanja mikrospora. U trenutku dobijanja makrospora dolazi do potpune razgradnje tapetuma, a protoplazmatični sadržaj njegovih želija postaje izvor hrane i opstanka celog procesa mikrogametogeneze. Mlada polenova zrna, nastala mitotičkom deobom jedra pa potom i citoplazme mikrospore na mikrofotografijama jasno pokazuju tri uzdužne brazde za klijanje u simetričnom rasporedu (trikolpatni tip polena);
- Praćenje toka i dinamike proučavanih mikrofenofaza u mikrosporo- i gametogenezi trešnje od početka mikrosporogeneze do pojave mladog polena kod ispitivanih sorti, pokazalo je kako je sortama bilo potrebno oko 14–15 dana u rano proleće za obavljanje ovih procesa, s prosečnim zbirom sume aktivnih temperatura od 204° C. Gledano po sortama, oscilacije su bile izražajnije: kod sorte Burlat ovi procesi bili su obavljeni za 20, 15 i 9 dana po redu za

ogledne godine ali je ovo skraćanje vremena trajanja bilo temperaturno uslovljeno (zbirne sume aktivnih temperatura bile su 187, 207 i 217° C, po godinama po redu); kod Stele fenofaze su nešto brže proticale ali su zbirne sume aktivnih temperatura bile najmanje u ogledu (200, 199 i 194° C, redom po godinama); Drojanova žuta je pomenute procese mikrosporo- i gametogeneze su obavljala nešto duže (za 15, 19 i 12 dana, po redu), sa najvećim pripadajućim zbirnim sumama aktivnih temperatura u ogledu (197, 221 i 216 ° C, po redu).

- Kretanje suma aktivnih temperatura, kada se radi o pojedinim mikrofenofazama ukazalo je na određene sorte specifičnosti: Sorta Burlat je za nijansu sporije prolazila kroz prve dve mikrofenofaze u mikrosporigenezi, ali je taj trend bio dijametralno suprotan kada se radi o brzom prolasku kroz fazu tetrada. Naime, raspon aktivnih temperatura koje su vodile kroz ovu mikrofenofazu bio je 3–4 puta veći od istog kod ostalih sorti u ogledu. Sorta Drojanova žuta kao najpoznocvetnija u ogledu neprimereno brzo je ušla u proces mikrosporigeneze, sa oko 3 puta većim rasponom suma aktivnih temperatura na nivou ogledne godine u odnosu na ostale sorte u ispitivanju;
- Ispitivanje klijavosti polena u *in vitro* uslovima, kao mera regularnosti toka diferenciranja muških elemenata cveta pokazala je relativno visoku prosečnu vrednost klijavosti polena kod ispitivanih sorti (preko 42 %), ali je klijavost dosta varirala kada se posmatraju osnovni faktori varijabilnosti (sorte i godine). Period pred cvetanje ispitivanih sorti u 2013. i 2015. bio je obeležen i umereno toplim vremenom sa manje padavina, koje je izgleda naročito pogodovalo genotipovima koji su imali nešto odloženije i prolongiranije cvetanje (Stela i Drojanova žuta). S druge strane, obilne padavine i nešto hladnije vreme prisutno sredinom marta 2014. godine proizvele su najlošije rezultate klijavosti i na nivou godina i na nivou sorti. Ipak, dobijeni rezultati bili su u nivou sa klijavašću polena trešnje koji su ostvareni u ogledima u centralnoj Srbiji (37–51 %);
- Praćenje procesa makrosporo- i gametogeneze na histološkom nivou kod ispitivanih sorti trešnje u oglednom periodu (2013–2015) najpre je ukazalo na *proandrični tip razvoja generativnih organa* kod trešnje, s obzirom da se najpre formiraju muški a potom ženski polni elementi. Mikrofotografije na poprečnom preseku cveta jasno su pokazale zakasnelo formiranje inicijalnih začetaka semenih zametaka u plodniku, u trenutku kada se odvija mejotička deoba u anterama. Razvoj nucelnog tkiva, praćen razrastanjem integumenata

koincidira sa pojavom arhesporijalne ćelije makrospore u subepidermalnom tkivu nucelusa (tkivo integumenata do polovine prekrilo nucelus); I mejotičkom deobom makrosporogeneze (integumenti okružuju $\frac{3}{4}$ nucelusa), i formiranjem makrospora (integumenti gotovo u potpunosti prekrivaju tkivo nucelusa), kada i otpočinje formiranje mikropile u cvetnim začecima trešnje. Početak makrosporogeneze teče pre fenofaze balona i putem mejotičke deobe dovodi do formiranja četiri makrospore u fazi tetrada (mikropilarni pol), koje imaju linearni raspored. Najdonja ćelija tetrada opstaje i od nje se putem niza mitotičkih deoba u procesu makrogametogeneze formira osmojedarna embrionova kesica, nakon čega sledi funkcionalno citološko organizovanje dobijenih elemenata u normalni osmojedarni stadijum, prisutan kod monospornog *Polygonum* podtipa embrionove kesice;

- Praćenje toka proučavanih mikrofenofaza u organogenezi trešnje, počevši od početka makrosporogeneze do pojave konstituisanog jajnog aparata kod ispitivanih sorti trešnje u Padinskoj Skeli ukazalo kako je sortama bilo potrebno prosečno oko 46 dana sa prosečnom sumom aktivnih temperatura od 502° C. Primećene su sl. sortne specifičnosti: kod sorte Burlat pomenute makrofenofaze su se odvijale u rasponu od 47, 49 i 38 dana, po redu dok su potrebne sume aktivnih temperatura iznosile 463, 489 i 449° C; sorta Stela je imala manju oscilaciju u pogledu dužine trajanja fenofaza, s obzirom da su se one odvijale za 50 (2013 i 2014. godina) i 41 dan, dok su sume aktivnih temperatura bile nešto više u odnosu na Burlat (511, 481 i 498° C, po redu); sorta Droganova žuta, kao najpoznocvetnija imala je umereno variranje obeležja, a makrosporo- i gametogeneza su protekle za 50, 48 i 42 dana, odnosno nakon nakupljanja 522, 536 i 571° C sume aktivnih temperatura. Posmatrane fenofaze u ogledu najranije su se odvijale u 2014., a najkraće trajale u 2015. godini;
- U pogledu kretanja sume aktivnih temperatura tokom dve zabeležene makrofenofaze kod sorti u ogledu koje su pratile pomenute procese u konstituisanju ženskog gametofita, interesantna su bila dva momenta: sorta Stela je vrlo brzo prošla kroz fenofaze belih glavica i punog cvetanja, a da je pritom raspon suma aktivnih temperatura neophodnih za proticanje fenofaza bio ubedljivo najveći i najmanji u ogledu (18,3° C za bele glavice i 12,1° C za puno cvetanje); sorta Burlat je, s druge strane, najbrže u ogledu prošla kroz fenofazu punog cvetanja, a da je pritom raspon suma aktivnih temperatura bio gotovo dva puta veći u odnosu na ostale sorte (29,3° C);
- Izrađene algoritamske šeme (**Šema 1-6**) koje prikazuju redosled i dinamiku diferencijacije ćelija i tkiva u procesu organogeneze muških i ženskih reproduktivnih organa kod

ispitivanih sorti za svaku oglednu godinu i raspoređenih precizno na vremenskoj skali, predstavljaju matricu za praćenje i upoređivanje tokova derminisanih procesa na nivou sorte u cilju eksplicitnog pozicioniranja odgovarajućih agro- i pomotehničkih mera u strogo određenom trenutku. Ovim pristupom definiše se biološka kontrola vezana za odgovarajuće formiranje meristematskih struktura i diferencijaciju tkiva i organa, kroz sumiranje ekoloških parametara u njihovom toku iskazanom na algoritamskoj osnovi, a što je i bio značajan deo ovog proučavanja;

- Na oglednoj lokaciji, tokom proširenih istraživanja vezanih za ovu tezu registrovana je pojava izmrzavanja pupoljaka tokom ranog proleća. Ubrzanje organogeneze rodni pupoljaka pod dejstvom aktivnih temperatura bilo izraženije kod sorti ranijeg cvetanja (Burlat i Stela), pa su stoga kod njih zabeležena i veća izmrzavanja (preko 28 %) u odnosu na poznocevtajuću Droganovu žutu (svega 4 % izmrzlih cvetova);
- Proučavanje X etape organogeneze kod sorti trešnje u ogledu (formiranje zigota i globularnog embriona) u procesu embriogeneze ukazalo je najpre na intenzivan rast integumenata i nucelnog tkiva, uz snažno izduživanje embrionove kesice u pravcu halaznog pola gde ona u jednom trenutku prerasta u haustorijalnu plodnicu. U trenutku kada su integumenti i nucelarno tkivo dostigli oko polovine svoje konačne veličine, embrion je tek sa desetak ćelija i u globularnoj je formi. Pojava jedarnog pa potom i ćelijskog endosperma, uz resorpciju nucelnog tkiva i obrazovanje haustorijalne plodnice, su procesi koji prate formiranje sekundarnog endosperma.

Saznanja do kojih se došlo ispitivanjem sortnih specifičnosti u organogenezi reproduktivnih organa trešnje u trogodišnjem oglednom periodu (2013–2015) na lokaciji Padinske Skele (okolina Beograda) a koja se tiču različitih aspekata reproduktivne biologije trešnje u funkciji realizacije rodnog potencijala ispitivanih sorti, trebalo bi da budu obavezni deo savremenog pristupa u tehnologiji gajenja trešnje, kako bi se potencijalni rizici u proizvodnji sveli na najmanju moguću meru. Ovde se pre svega misli na veliki kompleks faktora vezanih za zametanje ploda koji se moraju dovesti u odgovarajući funkcionalni odnos sa sistemom gajenja i nivoom primenjene agro- i pomotehnike, kao i postojećim ekološkim faktorima koji ograničavaju rodni potencijal trešnje. Primena znanja i veština u ovom segmentu na praktičnom planu može dovesti do povećanja postojećih prinosa i do 30 % (Mičić, 2018).

9. REFERENCE

- Andreini L., Bartolini S. (2008): Morphological changes in the apex of *Prunus persica* L. during floral transition and effects of gibberellin on flower bud differentiation. *Journal of Applied Horticulture*, 10(2): 93-9.
- Balas F., Guerra E., López-Corrales M. (2017): Assessment of Pollen Viability of Some Sweet Cherry Cultivars Used in Plant Breeding in Extremadura, Spain. *Acta Hort.* 1161, 431-434.
- Bartolini S., Viti R., Andreini L. (2013): The effect of summer shading on flower bud morphogenesis in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Central European Journal of Biology*, 8(1): 54-63.
- Bassi G., Villa M., Eccher T. (2007): Più frutti gemelli nel ciliegio con le alte temperature (More fruit twins in cherry with the high temperatures). *L'Informatore Agrario* 26: 49-53.
- Beppu K., Kataoka I. (1999): High temperature rather than drought stress is responsible for the occurrence of double pistils in 'Satohnishiki' sweet cherry. *Scientia Horticulturae*, 81(2): 125-134.
- Beppu K., Kataoka I. (2000): Artificial shading reduces the occurrence of double pistils in 'Satohnishiki' sweet cherry. *Scientia Horticulturae* 83(3-4): 241-247.
- Beppu K., Takayuki I., Kataoka I. (2001): Effect of high temperature exposure time during flower bud formation on the occurrence of double pistils in 'Satohnishiki' sweet cherry. *Scientia Horticulturae*, 87(1-2): 77-84.
- Blaženčić J. (1994): Praktikum iz anatomije biljaka sa osnovama mikroskopske tehnike. Naučna knjiga, Beograd.
- Božović M. (1996): Ekoklimatske karakteristike Pančevačkog rita. *Zbornik naučnih radova PKB INI Agroekonomik* 2(1): 215-222.
- Brown G.S. et al. (1995): Effects of copper-calcium sprays on fruit cracking in sweet cherry (*Prunus avium*). *Scientia Horticulturae* 62:75-80.
- Brown S.K., Iezzoni A.F., Fogle H.W. (1996): Cherries. In 'Fruit Breeding, Volume I. Tree and Tropical Fruits'. Janick J., Moore J.N. (Ed.), John Wiley & Sons, Inc., pp. 213-255.
- Burgos L., Alburquerque N., Egea J. (2004): Review. Flower biology in apricot and its implications for breeding. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2 (2), 227-241.

- Campoy J.A. et al. (2011): Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: A review. *Scientia Horticulturae* 130: 357–372.
- Cerović R. (1997): *Biologija oplodnje višnje*. Biblioteka DISSERTATIO. Zadužbina Andrejević, Beograd, 1-133 pp.
- Cerović R., Mičić N. (1996): Oprašivanje i oplodnja jabučastih i koštičavih voćaka. *Jugoslovensko voćarstvo* Vol. 30, 113-114: 73-98.
- Cerović R., Mičić N. (1999): Functionality of embryo sacs as related to their viability and fertilization success in sour cherry. *Scientia Horticulturae* 79: 227-235.
- Cerović R., Mičić N., Đurić G, Nikolić M. (1998): Determination of pollen viability in sweet cherry. *Proceedings of the Third International Cherry Symposium in Norway. Acta Horticulturae* 468: 559-565.
- Cerović R., Vujičić R., Mičić N. (1999): Localization of polysaccharides in the ovary of sour cherry. *Gartenbauwissenschaft* 64(1): 40-46.
- Costes E., Crespel L., Denoyes B., Morel P., Demene M.-N., Lauri P.-E., Wenden B. (2014): Bud structure, position and fate generate various branching patterns along shoots of closely related Rosaceae species: a review. *Frontiers in Plant Science* 5, 666: 1-11 pp.
- Costes E., Lauri P.E., Regnard J.L. (2006): Analyzing Fruit tree Architecture: Implications for Tree Management and Fruit production. *Horticultural Reviews*, 32: 1-61 pp.
- Davidson A., Da Silva D., Quintana B., DeJong T.M. (2015): The phyllochron of *Prunus persica* shoots is relatively constant under controlled growth conditions but seasonally increases in the field in ways unrelated to patterns of temperature or radiation. *Scientia Horticulturae* 184: 106-113.
- Demirsoy L. and H. (2004): The epidermal characteristics of fruit skin of some sweet cherry cultivars in relation to fruit cracking. *Pak. J. Bot.*, 36(4): 725-731.
- Engin H. (2006): Scanning electron microscopy on floral initiation and developmental stages in 'Glohaven' peach (*Prunus persica* L.) under water deficit. *Bangladesh Journal of Botany* 35(2): 163-168.
- Engin H., Ünal Ali (2007): Examination of flower bud initiation and differentiation in sweet cherry and peach by scanning electron microscope. *Turk. J. Agric. For.* 31: 373-379.
- Engin H. (2008): Scanning electron microscopy of floral initiation and developmental stages in sweet cherry (*Prunus avium*) under water deficit. *Bangladesh Journal of Botany* 37(1): 15-19.

Esau K. (1977): Anatomy of seed plants. John Wiley and Sons Inc., New York.

Fadon E., Herrero M., Rodrigo J. (2015): Flower development in sweet cherry framed in the BBCH scale. *Scientia Horticulturae* 192: 141-147.

FAOSTAT Data Base (2017): Cherries, Production Quantity.
<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

Faust M. (1989): Flower bud development-fruiting. 4th chapter. In: 'Physiology of temperate zone fruiting trees'. John Wiley and Sons, New York: 170-234 pp.

Faust M., Suranyi D. (2011): Origin and dissemination of Cherry. In: 'Origin and Dissemination of *Prunus* Crops Peach, Cherry, Apricot, Plum, Almond'. Janick J. (Ed.), Purdue University and ISHS, *Scripta Horticulturae* 11, pp. 55-101.

Gallotta A., Palasciano M., Mazzeo A., Ferrara G. (2014): Pollen production and flower anomalies in apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae* 172: 199-205.

Garcia-Montiel F., Serrano M., D. Martinez-Romero D., Albuquerque N. (2010): Factors influencing fruit set and quality in different sweet cherry cultivars. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8(4), 1118-1128.

Guimond C.M., Andrews P.K., Lang G.A. (1998): Scanning electron microscopy of floral initiation in sweet cherry. *JASHS* 123(4): 509-512.

Hansen M. (2007): The causes and cures of doubling. *Good fruit Grower*, 15th March.

Hedhly A., Hormaza J.I., Herrero M. (2004): Effect of temperature on pollen tube kinetics and dynamics in sweet cherry, *Prunus avium* (*Rosaceae*). *American Journal of Botany* 91(4): 558-564.

Hedhly A., Hormaza J.I., Herrero M. (2007): Warm temperatures at bloom reduce fruit set in sweet cherry. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 81, 158 – 164.

Hedhly A., Hormaza J.I., Herrero M. (2009): Flower emasculation accelerates ovule degeneration and reduces fruit set in sweet cherry. *Scientia Horticulturae* 119: 455-457.

Herrero, M. (2000): Changes in the Ovary Related to Pollen Tube Guidance. *Annals of Botany* 85 (Supplement A): 79-85.

Horsáková J., Krška B. (2014): Evaluation of the course of microsporogenesis in some selected peach (*Prunus persica* L./Batsch) cultivars. *Acta Agriculturae Serbica, Vol. XIX, 37 (2014); 27-39.1*

- Jevtić S., Mičić N., Đurić G., Cerović R. (1997): Model of ecological functions of growth and development in potato. Proc. First Balkan Symp., Acta Hort. 462: 1019-1023.
- Jia Hui-juan, X.Yang, Feng-jie HE, B. Li (2013): Anatomical studies of ovule development in the post-bloom pistils of the 'Zuili' plum (*Prunus salicina* Lindl.). Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology), 4(9):800-806.
- Kapetanović N., Muratović A., Lučić P. (1970): Faze mikrosporogeneze šljive u području Sarajeva. Jugoslovensko voćarstvo 13: 19-26.
- Kappel F., MacDonald R. (2007): Early gibberelic acid spray increase firmness and fruit size of 'Sweetheart' sweet cherry. JAPS 61(1): 38-43.
- Keserović Z. (1994): Diferenciranje cvetnih začetaka u badema. Jugoslovensko voćarstvo 28, 105-106: 41-46.
- Keserović Z. (1996): Embriogeneza u trešnje i višnje. Jugoslovensko voćarstvo 30, 113-114 (1-2): 143-150.
- Knight, R.L. (1969): Abstract Bibliography of Fruit Breeding and Genetics to 1965, *Prunus*. Commonwealth Agricultural Bureaux, The Eastern Press Ltd., of London and Reading, pp. 251-252; 310-311, 326.
- Knight V.H., Evans K.M., Simpson D.W., Tobutt K.R. (2005): Report on desktop study to investigate the current world resources in Rosaceous fruit breeding programmes. East Malling Research. [www2.defra.gov.uk/science/project data/](http://www2.defra.gov.uk/science/project_data/): 1-80 pp.
- Koutinas N., Pepelyankov G., Lichev V. (2010): Flower induction and flower bud development in apple and sweet cherry. Biotechnology & Biotechnical equipment, 24(1): 1549-1558.
- Lamp B.M., Connell J.H., Duncan R.A., Viveros M., Polito V.S. (2001): Almond flower development: Floral initiation and organogenesis. JASHS 126(6): 689-696.
- Lauri P.E., Clavierie J. (2008): Sweet cherry architecture physiology and management: towards an integrated view. Proceedings from V International Cherry Symposium, Turkey, 2005. Acta Horticulturae 795: 605-614.
- Lenahan O.M., Whiting M.D. (2006): Physiological and horticultural effects of sweet cherry chemical blossom thinners. HortScience 41: 1547-1551.

- Li B., Xie Z., Zhang A., Xu W., Zhang C., Liu Q., Liu C., Wang S. (2010): Tree growth characteristics and flower bud differentiation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) under different climate conditions in China. Hort. Sci. (Prague): 37(1): 6-13.
- Long L. (2006): Cracking a worldwide problem. [Good Fruit Grower](#), Cherry World, July.
- Luedeling E. et al. (2009): Climatic changes lead to declining winter chill for fruit and nut trees in California during 1950-2099. PLoS ONE 4(7): e6166. doi:10.1371/journal.pone.0006166
- Lučić P., Đurić G., Mičić N. (1996): Voćarstvo I. Institut za istraživanja u poljoprivredi, Nolit, Partenon.
- Maričić M. (1982): Neke agroklimatske karakteristike Pančevačkog rita. Nauka u praksi 12(2): 283-288.
- Measham P.F., Gracie A.J., Bound S.A., Wilson S.J. (2009): An alternative view of rain induced cracking of Sweet Cherry (*Prunus avium* L.). Oral presentation to the ISHS Sixth International Cherry Symposium, 15-19 November, Renaca, Chile.
- Mičić N. (1988): Proučavanje mejoze u mikrosporogenezi šljive. Jugoslovensko voćarstvo 22, 86/4: 305-312.
- Mičić N. (1988a): Mikrosporogeneza i karakteristike polena šljive. Magistarski rad. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Sarajevu, pp. 1-128.
- Mičić N. (1989): Mikrosporogeneza šljive. Radovi Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, XXXVII, 41: 71-86.
- Mičić N. (1992): Specijalno voćarstvo – Praktikum. Poljoprivredni fakultet Sarajevo. STEP 5 Sarajevo.
- Mičić N. (1992a): Uticaj temperaturnih uslova na pojavu sterilnih cvjetova u šljive požegače. Radovi Poljoprivrednog fakulteta, god XL, br. 44. str: 73 – 85.
- Mičić N. (1992b): Biološki potencijal za diferencijaciju generativnih pupoljaka u šljive. Jugoslovensko voćarstvo 26, 99-100: 11-16.
- Mičić N. (1992): Prilog poznavanju klasifikacije generativnih pupoljaka u voćaka. Jugoslovensko voćarstvo 26, 97-98: 3-13.
- Mičić N. (1993): Organogeneza šljive. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu, pp. 1-191.

- Mićić N. (1994): Mikrofenofaze u diferencijaciji cvetova kao osnova biološke kontrole u formiranju rodnog potencijala šljive. *Jugoslovensko voćarstvo* 28, 107-108 (3-4):3-10.
- Mićić (2018): REPRODUKTIVNA BIOLOGIJA – elementarno znanje u spoznaji faktora visoke produktivnosti voćaka. *Fructus*, 3(4): 1-2.
- Mićić N., Čmelik Z. (1988): Diferencijacija pupoljaka na rodnim grančicama šljive Požegače i Altanove renklode. *Radovi Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Sarajevu*, XXXVI, 40: 137-146.
- Mićić N., Jarebica Dž., Čmelik Z., Đurić G. (1987): Proučavanje morfologije polena trešnje. *Poljoprivredni pregled* 4-6: 49-58.
- Mićić N., Đurić G. (1995): Ciklus organogeneze šljive. *Jugoslovensko voćarstvo* 29, 111-112: 45-60.
- Mićić N., Đurić G. (1995): Zavisnost toka diferencijacije od položaja vegetativnih kupa na nodusima mladara u vrsta voćaka iz roda *Prunus*. *Jugoslovensko voćarstvo* 29, 111-112: 67-75.
- Mićić N. Đurić G. (1998): Atrofija semenih zametaka kod morfološki atipičnih cvetova šljive. *Jugosl. voćar*. Vol. 32. br. 121 – 122. str: 37 – 44.
- Mićić N., Đurić G. (2020): Sistemi gajenja i rezidba trešnje. U ''Voćarstvo II, sistemi gajenja i rezidba: jabuka, kruška, šljiva, brekva, trešnja, kajsija leska, malina, jagoda''. Naučno voćarsko društvo Republike Srpske, Banja Luka i Partenon, Beograd: 327-390 pp.
- Mićić, N., Đurić G, Stajić N. (1990): Pojava morfološki sterilnih cvjetova u šljive. *Radovi Poljoprivrednog fakulteta*, god XXXVIII, 42, 138 – 148.
- Mićić N., Đurić G., Cerović R., Jevtić S. (1992): Effect of drought on the break of differentiation and abortion of generative buds in plum. *Proceedings of the International Symposium 'Drought and plant production'*, Belgrade: 409-415.
- Mićić N., Djurić G., Jevtić S., Lučić P. (1996): The Basis for Defining a Model of Ecological Functions of the Organogenesis in Fruit Crops. *J. Sci. Agric. Research* 57, 203: 89-99.
- Mićić N., Đurić G., Cerović R. (1996a): Opšti aspekti proučavanja organogeneze voćaka. Uvodni referati i abstrakti X Kongresa voćara Jugoslavije, Čačak (28.X-1.XI): 120 p.p.
- Mićić N., Đurić G., Cvetković M., Marinković D. (2008): Savremeni sistemi gajenja trešnje. *Zbornik naučnih radova sa XXIII Savetovanja o unapređenju proizvodnje voća i grožđa*, Grocka, Vol. 14(5): 33-47.

Milatović D., Đurović D., Đorđević B., Vulić T., Zec G. (2011): Pomološke osobine novijih sorti trešnje u gustom sadnji. Inovacije u voćarstvu III savetovanje (Unapređenje proizvodnje trešnje i višnje), Zbornik radova, 163-171.

Milatović D., Nikolić D. (2014): Uticaj temperature na klijavost polena i rast polenovih cevčica sorti višnje. Journal of Agricultural Sciences Vol. 59(1): 45-52.

Mišić P.D. (1987): Opšte oplemenjivanje voćaka. Nolit, Beograd.

Mišić P.D. (2002): Specijalno oplemenjivanje voćaka. Partenon i Institut za istraživanja u poljoprivredi, Beograd.

Németh Sz., Szalay L., Reményi, M. L. (2008): Flower bud differentiation in apricot. International Journal of Horticultural Science 14(4): 19-21.

Niederholzer F. (2015): Prune Chilling Prediction Model.

http://fruitsandnuts.ucdavis.edu/Weather_Services/prune_chilling_prediction_about/

Nikolić T. (2008): Vek (1906-2006) gročanskog voćarstva. Voćarsko-vinogradarsko društvo ``Grocka``, Grocka.

Ninkovski I. (1998): Trešnja-savremeni načini podizanja, gajenja i iskorišćavanja. Potez Uno, Beograd: 3-151.

NOVAGRIM Homepage (2017) http://www.novagrim.com/Pages/default_EN.aspx

Oukabli A. (2004): Le ceresier-Une culture de zones d'altitude. PNTTA (Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture) bulletin mensuel d'information et de liaison du pntta, N° 116: 1-4 pp.

Oukabli A., Mahhou A. (2007): Dormancy in sweet cherry (*Prunus avium* L.) under Mediterranean climatic conditions. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 11(2): 133-139.

Penzar I., Penzar B. (1985): Agroklimatologija. Školska knjiga, Zagreb.

Popovska M., Popovski B. (2000): Dinamika diferencijacije cvetnih pupoljaka kod nekih sorti trešnje u uslovima Skoplja. Uvodni referat i abstrakti 11. Kongresa voćara Jugoslavije sa međunarodnim učešćem, Tara (21-25. XI): 121 pp.

Primack R.B. et al. (2009): The impact of climate change on cherry trees and other species in Japan. *Biological Conservation*, 142, 1943–1949.

- Radičević S., Cerović R., Marić S., Đorđević M., Marić S. (2008): Ispitivanje fenofaze cvetanja i klijavosti polena novijih sorti trešnje. Voćarstvo, 163-164; 89-95.
- Radičević S., Cerović R., Marić S., Đorđević M. (2011): Flowering time and incompatibility groups-cultivar combination in commercial sweet cherry (*Prunus avium* L.) orchards. Genetika 43(2): 397-406.
- Radičević S., Cerović R., Nikolić D., Đorđević M., Lukić M. (2011): Inicijalno i finalno zametanje plodova sorti trešnje u zavisnosti od tipa oprašivanja. Voćarstvo, 173-174: 31-37.
- Radičević S. (2013): Biologija oplođenja i pomološke osobine novointrodotovanih sorti trešnje (*Prunus avium* L.). Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet: 1-177 pp.
- Ruiz D., Campoy J. A., Egea J. (2010): Ovule development at anthesis in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) cultivars. Spanish Journal of Agricultural Research 2010 8(1), 151-158.
- Sarısü, H.C., Askin M.A. (2014): Nucellus deformation in sweet cherry primary ovules at anthesis. Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences, Special Issue 1: 1158-1163.
- Schuster M. (2017): Self-incompatibility (S) genotypes of cultivated sweet cherries – An overview 2017. www.OpenAgrar.de DOI - 10.5073/20171213-111734
- Southwick S.M., Shackel K.A., Yeager J.T., Asai W.K., Katacich M. Jr. (1991): Over-tree sprinkling reduces abnormal shapes in 'Bing' sweet cherries. California Agriculture, 45: 24-26.
- Southwick S.M., Shackel K., Yeager J. T. (1994): Abstr. N° 087 Relationship between summer temperature and deep suture formation in Bing sweet cherry. HortScience 29(5): 440 pp.
- Southwick S.M. (1999): Cherry Crinkle-leaf and deep suture disorders. Division of Agriculture and Natural Resources, Publication 8007: 1-7 pp.
- Stanković D.M. (1981): Trešnja i višnja. Nolit, Beograd: 5-180.
- Stanković D.M., Jovanović M.S. (1990): Opšte voćarstvo, Naučna knjiga, Beograd, 166-190 pp.
- Szalay L. (2006): Comparison of flower bud development in almond, apricot and peach genotypes. International Journal of Horticultural Science 12(2): 93-98.
- Valkanov N. (2015): Cherry Production in Bulgaria. InteliAgro, Sofia.

Viti R., Bartolini S., Andreini L. (2008): Apricot flower bud development: Main biological, physiological and environmental aspects related to the appearance of anomalies. Int. Jour. of Plant Develop. Biol. 2(1): 25-34.

Whiting M., Martin R. (2008): Reducing sweet cherry doubling. Good Fruit Grower, 15th february.

Zhang C., Whiting M. (2012): The occurrence of protruding pistil in sweet cherry (*Prunus avium* L.) and its consequence on fertilization. Scientia Horticulturae 140: 149-156.

Biografija autora mr Dejan Marinkovića

Dejan M. Marinković je rođen 20.01. 1969. godine u Beogradu, gde je završio osnovnu školu i gimnaziju. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu, Voćarsko-vinogradarski odsek je završio 1996. godine sa prosečnom ocenom 8,76. Na istom fakultetu je školske 1996/97. godine upisao i postdiplomske studije na grupi Pomologija. Magistarske studije je završio sa prosečnom ocenom 9,83 i odbranio Magistarsku tezu, pod naslovom „Pogodnost agroekoloških uslova beogradskog regiona za intenzivno gajenje maline“, 1.03. 2004. godine.

Kao stipendista-istraživač Ministarstva za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije bio je angažovan na istraživačkim i stručnim poslovima u Institutu PKB Agroekonomik u periodu 1996-1997. Od 1.01. 1998. godine primljen je u stalni radni odnos u pomenutom Institutu sa zvanjem istraživač-pripravnik uz nastavak angažovanja u smislu učestvovanja na projektima Ministarstva nauke i zaštite životne sredine, kao i na stručnim (proizvodno-tehnološkim, projektantsko-savetodavnim i drugim) poslovima u Zavodu za voćarstvo i vinogradarstvo Instituta PKB Agroekonomik. Posle odbranjene magistarske teze 21. 10. 2004. godine promovisan je u zvanje istraživač-saradnik, da bi decembra 2005. godine bio postavljen na čelo Zavoda za voćarstvo i vinoradarstvo u svojstvu pomoćnika direktora Instituta za voćarstvo i vinogradarstvo. Od 2013. zaposlen je kao savetodavac za voćarstvo i vinogradarstvo u Poljoprivrednim Savetodavnim i Stručnim službama Srbije.

Tokom svog rada u Institutu bio je angažovan na sledećim projektima Ministarstva za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije: projekat 12E05 (Agrobiološka, biohemijska i ekofiziološka istraživanja u ratarstvu, povrtarstvu, voćarstvu i vinogradarstvu) u periodu 1996-2000; Projekat tehnološkog razvoja BTR.5.04.0525.B (Introdukcija, stvaranje, proučavanje i uvođenje u proizvodnju novih sorti voćaka i vinove loze poboljšanih bioloških i privrednih karakteristika) u periodu 2002-2004. godina; Nacionalni projekat BTN.4.5.0. 0717.B-Program proizvodnje i prerade grožđa (Proizvodnja zdravog sadnog materijala voćaka i vinove loze), u periodu 2002-2005. godina, Nacionalni program biotehnologije i agroindustrije br. 341006 (tema 'Proizvod sveža malina') i projekat tehnološkog razvoja 6882 (Stvaranje, odabiranje i proučavanje genotipova voćaka boljih biološko-privrednih osobina). Kao rezultat naučnog angažovanja objavio je kao autor i koautor 36 naučnih radova i uradio magistarsku tezu. Svoje rezultate uspešno je saopštavao na skupovima u Srbiji: Savetovanjima agronoma, veterinaru i tehnologa-Beograd, Savetovanjima o unapređenju proizvodnje voća i grožđa-Grocka, Smotri mladih naučnih radnika iz oblasti biotehnike-Zemun Polje i Simpozijumima za oplemenjivanje organizama, Kongresima voćara, na

Prvim simpozijumima o malini i šljivi Srbije sa međunarodnim učešćem, kao i na Devetom Internacionalnom *Rubus-Ribes* Simpozijumu u Čileu.

UNIVERZITET U BANJOJ LUCI
POLJOPRIVREDNI FAKULTET
Broj: 1013.665/21
Datum: 11.03. 21
Očigledno

UNIVERZITET U BANJOJ LUCI
FAKULTET: POLJOPRIVREDNI



IZVJEŠTAJ

o ocjeni urađene doktorske teze

PODACI O KOMISIJI

Odlukom Nastavno-naučnog vijeća Poljoprivrednog fakulteta broj 1013.797-7-6/20 od 21. aprila 2020. godine imenovana je Komisija za ocjenu i odbranu urađene doktorske disertacije kandidata mr Dejana Marinkovića, pod naslovom: "Genotipske specifičnosti u organogenezi reproduktivnih organa trešnje *Prunus avium* L." u sljedećem sastavu:

1. Dr Gordana Đurić, redovni profesor Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci na užim naučnim oblastima: Hortikultura i Održivo korišćenje genetičkih resursa, predsjednik,
2. Dr Boris Pašalić, vanredni profesor Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci na užoj naučnoj oblasti Hortikultura, član,
3. Dr Azra Skender, vanredni profesor Biotehničkog fakulteta Univerziteta u Bihaću, na užim naučnim oblastima: Voćarstvo i Oplemenjivanje biljaka, član.

Datum i organ koji je imenovao komisiju. Sastav komisije sa naznakom imena i prezimena svakog člana, zvanje, naziv uže naučne oblasti za koju je izabran u zvanje i naziv univerziteta i fakulteta u kojoj je član komisije zaposlen.

1. UVODNI DIO OCJENE DOKTORSKE TEZE

Doktorska disertacija pod naslovom: "Genotipske specifičnosti u organogenezi reproduktivnih organa trešnje *Prunus avium* L." napisana je na 121 stranici A4 formata. Disertacija sadrži 5 tabela, 73 originalne fotografije, 7 klima dijagrama i 6 složenih grafikona – algoritama organogeneze (svaki uključuje 3 pojedinačna algoritma, što ukupno čini 18 pojedinačnih algoritama procesa organogeneze) muških i ženskih reproduktivnih organa tri sorte tršnje u tri godine istraživanja. U izradi i pisanju disertacije korišćeno je 109 literaturnih izvora.

Disertacija ima sljedeća poglavlja: Uvod; Cilj istraživanja u radna hipoteza; Pregled literature; Objekat, materijal i metod rada; Ekološki uslovi; Rezultati istraživanja, Diskusija rezultata istraživanja, Zaključci i Reference (literatura).

a) Istaći osnovne podatke o doktorskoj tezi: obim, broj tabela, slike, broj citirane literature i navesti poglavlja.

2. UVOD I PREGLED LITERATURE

a) Današnji ciljevi oplemenjivanja trešnje u oplemenjivačkim centrima širom svijeta ukazuju na potrebu dobijanja genetičkog materijala prilagođenog nepovoljnim uslovima spoljne sredine (mraz, suša, topli vjetrovi i visoka relativna vlažnost vazduha u vrijeme

cvjetanja i oplodnje), u smislu postizanja visoke i redovne rodности, a potom i proširenja sezone zrenja plodova kod trešnje. Otoplјavanje klime na globalnom nivou često dovodi do nepovoljnog odvijanja fenoloških faza u godišnjem ciklusu razvoja voćaka, o čemu svjedoče i brojne studije. Promjena klimatskih uslova može uticati ne samo na ciklus zimskog mirovanja, već i na cjelokupnu fiziologiju biljke. Pojava sterilnosti kod trešnje usljed nepovoljnih uslova spoljašnje sredine (ekološka sterilnost) u smislu njene veće osjetljivosti na visoke temperature tokom programne faze promjene karaktera vegetativne kupe evidentna je i u pogledu manje klijavosti polenovih zrna ali i nesinhronizovanog (dinamičnog) rasta polenove cjevčice pri istim temperaturama. Sa stanovišta agro- i pomotehnike poznavanje redosqeda, početka i toka morfo- i fizioloških promjena u procesima rasta i razvitka nadzemnih organa voćaka, predstavljenih fenofazama i mikrofenofazama, neophodna je radi definisanja pojedinačnih tretmana ali i kompletnih protokola za biološku kontrolu ovih procesa u godišnjem ciklusu razvoja voćaka. Sa stanovišta voćarske prakse u primjeni odgovarajućih proizvodnih procesa i razvoju novih tehnologija gajenja naročito je važna mogućnost djelovanja na tokove diferencijacije u vrijeme formiranja rodних pupolјjaka kod voćaka. To je period od trenutka otpočinjanja programne faze difeferncijacije (III etapa) koja je spolja nevidljiva, pa sve do realizacije rodноg potencijala (XII etapa-formiranje fiziološki zrelog ploda) koji hormonski može inhibirati dalji tok diferencijacije.

Cilј istraživanja bio je da se detalјnim histo-citološkim i citogenetičkim proučavanјima u formiranju muškog i ženskog gametofita determinišu genotipske specifičnosti i dinamika diferencijacije ćelija i tkiva kod tri sorte trešnje (Burlat, Droгanova žuta i Stela), uz precizno definisanje ovog procesa kao algoritma formiranja i realizacije histomorfoloških procesa rasta i razvicia, kao osnove za realizaciju njihovog rodноg potencijala. Krajnji zadatak ovako postavljenog cilја je stvaranje histo-citološke i citogenetičke osnove u funkciji razvoja novih biotehnoloških metoda kontrole plodonošenja trešnje.

b) U pregledu literature obrađena su pitanja: specifičnosti organogeneze, arhitekture stabla, modeliranja rasta trešnje u intenzivnim sistemima gajenja; uticaj ekoloških faktora na realizaciju rodноg potencijala i modeliranje; specifičnosti i animalije tokom sporogeneze, gameto- i embriogeneze. Detalјan pregled istraživanja procesa organogeneze voćaka, a posebno koštichavih voćaka, ukazuje da je dinamika etapa i podetapa organogeneze, počev od vegetativne tačke preko rodne grančice do plodonošenja sortna specifičnost. Ciklus organogeneze teče u dvogodišnjem periodu: tokom prve vegetacije u svim pazušnim pupolјjcima duž mladog prirasta kod analiziranih vrsta i sorti voćaka diferencira se samo jedna vegetativna kupa. Dalјom diferencijacijom primarne vegetativne kupe zimskog pupolјjaka u proljeće sledeće godine formiraju se primordije listova-preteče primarnih pokrovnih listića, u čijem pazuhu zaostaju meristemi koji su osnova formiranja kolateralnih pupolјjaka. Dalji tok diferencijacije vegetativnih kupa nodusa je vrlo različit i može teći u različitim pravcima: u pravcu diferenciranja vegetativnih ili generativnih pupolјjaka, ili se završava ranim atrofiranjem vegetativnih pupolјjaka, tj. atrofijom tokom diferencijacije generativnih pupolјjaka. Ciklus organogeneze koštichavog voća pokazuje kako tokom samo jednog ciklusa u kruni ovih voćaka teku tri paralelna procesa: 1) formiranje novih prirasta; 2) dalја diferencijacija zimskih pupolјjaka u pravcu vegetativnog/generativnog prirasta; 3) zimski pupolјjci sa već promjenjenim (generativnim) karakterom meristema kreću u završnu fazu diferencijacije (mikro i makrosporogenezu).

Arhitektura i razgranјavanje stabla rezultiraju iz odnosa između različitih pupolјjaka i meristemskih tkiva koji ih sačinjavaju. Ovi odnosi diktiraju kako će se svaki pupolјjak razvijati, rasti ili prestati rasti, odnosno da li će korespondirajući meristem održati svoju

organogenetsku aktivnost (tj. biti sposoban da proizvodi nove organe) ili će se pupoljak diferencirati u specifičan organ poput trna, cvijeta ili cvasti. Biljke ispoljavaju ograničen broj mogućih konfiguracija razgranavanja, shodno nekom od 23 arhitektonskih modela koja su definisana. Svaki od njih korespondira sa određenom kombinacijom četiri glavna kriterijuma koji se odnose na privremeno i topološko pozicioniranje cvjetova i vegetativnih prirasta. Jedan kriterijum odnosi se na razgranavanje koje može biti trenutno i odloženo, monopodijalno ili simpodijalno (prisustvo i odsustvo apikalne dominacije, po redu), bazi-, mezo- i akrotonično, što je vezano za distribuciju i poziciju novih prirasta (vršno, srednje i bazalno razgranavanje, po redu). Dalje, uzastopno razgranavanje se razlikuje od neprestanog ponavljanja, koje se dešava kada bočni prirast ima upoređujuću ili veću dužinu od svog roditeljskog prirasta, i djelimično ili potpuno ponavlja roditeljski sistem razgranavanja. Tipovi razgranavanja takođe se mogu modelirati putem promjene *agroekoloških uslova*. *Modeli zavise od toga da li se bočni prirasti razvijaju odmah ili nakon perioda mirovanja, da li je cvjetanje prisutno na pazušnim ili vršnim pozicijama, u pojedinačnim ili mješovitim pupoljcima.*

Predodređenost pupoljaka ka tipu diferencijacije definisana je tokom vegetacije, iako oni rastu nakon zimskog perioda mirovanja, narednog proljeća. Ovo je tipično za višegodišnje strukture, pored vidnog izuzeća od sileptičkog razgranavanja (obrazovanje bočnih prirasta u istoj vegetaciji kad i lateralni pupoljci iz kojih su nastali). U populaciji pupoljaka razvijenih tokom vegetacije samo dio se diferencira u cvjetne pupoljke, na određenim pozicijama. Ove pozicije takođe se mogu sagledati kao posebni vremenski koraci tokom godišnjeg ciklusa razvoja prirasta. U slučaju stabla trešnje, pobuđivanje u pravcu generativne diferencijacije dešava se samo u pupoljcima lociranim u preformiranim dijelovima prirasta, dakle u malom broju meristema formiranih rano tokom vegetacije.

Osnovno otvoreno pitanje u intenzivnim sistemima gajenja trešnje je kako zadržati vegetativne tačke rasta u zoni centralne osovine, koje su neophodne za kontrolu formiranja uzgojnog oblika i cikličnu zamjenu rodnog drveta odgovarajućeg rodnog potencijala. Odgovor je nađen u reintegraciji bujnih podloga u modernim sistemima gajenja trešnje. Intenzivni sistemi gajenja na podlogama veće bujnosti znatno lakše kontrolišu razvoj vegetativnih tačaka rasta, ali traže i visoku preciznost u agro- i pomotehnici i uspostavljanju osnovne strukture skeleta, kao i u cikličnoj smeni svih kategorija prirasta u okviru datog sistema gajenja.

Faktori koji uslovljavaju diferenciranje začetaka cvjetova u pupoljcima razvrstani su u tzv. faktore nasljedne prirode, zatim biohemijske (u smislu uspostavljanja fiziološke ravnoteže između pojedinih gradivnih makroelemenata, fitohormona), ekološke (fotoperiodizam, toplota, vlaga), i faktore agro- i pomotehničke prirode. Kao rezultat intenzivnih proučavanja u poslednjih 20–30 godina, dobijene su nove informacije o diferenciranju začetaka cvjetova u pupoljcima kod jabuke i trešnje, uključujući tu i gensku osnovu regulacije ovog procesa.

Razvoj cvjetnih pupoljaka tokom cjelokupnog procesa diferencijacije podložan je uticaju različitih faktora. Pored već spomenutog genotipski definisanog početka histoloških i morfoloških promjena navodi se i uticaj podloge u istom smislu.

Poznavanje vremena i lokacije formiranja vegetacionih kupa koje će se po formiranju diferencirati u generativne pupoljke veoma je važno zbog definisanja odgovarajuće pomotehnike kojom se ovaj proces može modelirati. Naime, dugo vremena je pojava prvih histo-morfoloških promjena na meristemskom vrhu posmatrana kao početak diferencijacije generativnih pupoljaka. Danas je poznato da ovim mikroskopski vidljivim promjenama prethodi tzv. programna faza. To je period od trenutka kada vegetacione kupe ulaze u reproduktivnu fazu diferencijacije do momenta kada se ova pojava uočava

na histo-morfološkom nivou. Proces diferencijacije dakle obuhvata i raniju fazu reprogramiranja gena iz vegetativne u generativni program diferencijacije, po dobijanju stimulusa za obrazovanje cveta. Priroda signala za inicijaciju procesa diferenciranja je nepoznata, ali ovaj proces teče i preklapa se sa drugim aktivnostima stabla. Uslovi prirodne sredine takođe moraju biti dirigovani ka ovoj aktivnosti.

Uticaj visokih temperatura u uslovima visoke sunčeve radijacije na proces diferencijacije začetak cvjetnih elemenata u pupoljcima trešnje tokom ljeta bio je analiziran od strane većeg broja istraživača. Pitanje inicijacije diferencijacije generativnih pupoljaka u uslovima skraćenog perioda mirovanja, u kome nema dovoljne akumulacije jedinica hladnoće tipično je za toplija područja i od presudnog je značaja za postojanje i proširenje komercijalne proizvodnje trešnje u submediteranskim područjima.

v) Organogeneza reproduktivnih organa u voćarskoj nauci u principu podrazumjeva inicijaciju, formiranje i realizaciju rodnog potencijala različitih kombinacija sorta-podloga u postojećim uslovima gajenja. Kod trešnje (*Prunus avium* L.) se pretpostavlja da postoje brojne genotipske specifičnosti u formiranju generativnih pupoljaka, diferencijaciji primordija andreceuma i gineceuma, u procesima mikro i makrosporigeneze, kao i u konstituisanju embrionovih kesica, oplodnji i zametanju plodova u datim uslovima gajenja.

U istraživanjima se pošlo od pretpostavke o strogo definisanom početku i toku diferencijacije ćelija i tkiva na nivou vrste, kao i o postojanju sortnih specifičnosti u procesima razvoja i formiranja muškog i ženskog gametofita u određenim uslovima gajenja. Sve ove pretpostavke trebalo bi materijalizovati i iskoristiti na pomotehničkom nivou za definisanje pristupa u kontroli rasta različitih kategorija prirasta kod ove ali i drugih vrsta slične fenotipske ekspresije.

Ispitivanja obuhvaćena ovom tezom otvaraju brojna pitanja koje valja definisati kako bi se mogla uspostaviti održiva kontrola u projektovanju rodnog potencijala i u njegovoj realizaciji kod različitih sortnih kompozicija, visokoproduktivnih kombinacija sorta-podloga u intenzivnim i visokintenzivnim sistema gajenja.

g) Popis korišćene literature:

- Andreini L., Bartolini S. (2008): Morphological changes in the apex of *Prunus persica* L. during floral transition and effects of gibberellin on flower bud differentiation. *Journal of Applied Horticulture*, 10(2): 93-9.
- Balas F., Guerra E., López-Corrales M. (2017): Assessment of Pollen Viability of Some Sweet Cherry Cultivars Used in Plant Breeding in Extremadura, Spain. *Acta Hort.* 1161, 431-434.
- Bartolini S., Viti R., Andreini L. (2013): The effect of summer shading on flower bud morphogenesis in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Central European Journal of Biology*, 8(1): 54-63.
- Bassi G., Villa M., Echer T. (2007): Più frutti gemelli nel ciliegio con le alte temperature (More fruit twins in cherry with the high temperatures). *L'Informatore Agrario* 26: 49-53.
- Beppu K., Kataoka I. (1999): High temperature rather than drought stress is responsible for the occurrence of double pistils in 'Satohishiki' sweet cherry. *Scientia Horticulturae*, 81(2): 125-134.
- Beppu K., Kataoka I. (2000): Artificial shading reduces the occurrence of double pistils in 'Satohishiki' sweet cherry. *Scientia Horticulturae* 83(3-4): 241-247.
- Beppu K., Takayuki I., Kataoka I. (2001): Effect of high temperature exposure time during flower bud formation on the occurrence of double pistils in 'Satohishiki' sweet cherry. *Scientia Horticulturae*, 87(1-2): 77-84.
- Blaženčić J. (1994): Praktikum iz anatomije biljaka sa osnovama mikroskopske tehnike. Naučna knjiga, Beograd.
- Božović M. (1996): Ekoklimatske karakteristike Pančevačkog rita. *Zbornik naučnih radova PKB INI Agroekonomik* 2(1): 215-222.
- Brown G.S. et al. (1995): Effects of copper-calcium sprays on fruit cracking in sweet cherry (*Prunus avium*). *Scientia Horticulturae* 62:75-80.
- Brown S.K., Iezzoni A.F., Fogle H.W. (1996): Cherries. In 'Fruit Breeding, Volume I. Tree and Tropical Fruits'. Janick J., Moore J.N. (Ed.), John Wiley & Sons, Inc., pp. 213-255.
- Burgos L., Albuquerque N., Egea J. (2004): Review. Flower biology in apricot and its implications for breeding. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2 (2), 227-241.
- Campoy J.A. et al. (2011): Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: A review. *Scientia Horticulturae* 130: 357-372.
- Cerović R. (1997): Biologija oplodnje višnje. Biblioteka DISSERTATIO. Zadužbina Andrejević, Beograd, 1-133 pp.
- Cerović R., Mitić N. (1996): Oprašivanje i oplodnja jabučastih i košičavih voćaka. *Jugoslovensko voćarstvo* Vol. 30, 113-114: 73-98.
- Cerović R., Mitić N. (1999): Functionality of embryo sacs as related to their viability and fertilization success in sour cherry. *Scientia Horticulturae* 79: 227-235.
- Cerović R., Mitić N., Đurić G., Nikolić M. (1998): Determination of pollen viability in sweet cherry. *Proceedings of the Third International*

- Cherry Symposium in Norway. *Acta Horticulturae* 468: 559-565.
- Cerović R., Vujić R., Mićić N. (1999): Localization of polysaccharides in the ovary of sour cherry. *Gartenbauwissenschaft* 64(1): 40-46.
- Costes E., Crespel L., Denoyes B., Morel P., Demene M.-N., Lauri P.-E., Wenden B. (2014): Bud structure, position and fate generate various branching patterns along shoots of closely related Rosaceae species: a review. *Frontiers in Plant Science* 5, 666: 1-11 pp.
- Costes E., Lauri P.-E., Regnard J.L. (2006): Analyzing Fruit tree Architecture: Implications for Tree Management and Fruit production. *Horticultural Reviews*, 32: 1-61 pp.
- Davidson A., Da Silva D., Quintana B., DeJong T.M. (2015): The phyllochron of *Prunus persica* shoots is relatively constant under controlled growth conditions but seasonally increases in the field in ways unrelated to patterns of temperature or radiation. *Scientia Horticulturae* 184: 106-113.
- Demirsoy L. and H. (2004): The epidermal characteristics of fruit skin of some sweet cherry cultivars in relation to fruit cracking. *Pak. J. Bot.*, 36(4): 725-731.
- Engin H. (2006): Scanning electron microscopy on floral initiation and developmental stages in 'Glohaven' peach (*Prunus persica* L.) under water deficit. *Bangladesh Journal of Botany* 35(2): 163-168.
- Engin H., Ünal Ali (2007): Examination of flower bud initiation and differentiation in sweet cherry and peach by scanning electron microscope. *Turk. J. Agric. For.* 31: 373-379.
- Engin H. (2008): Scanning electron microscopy of floral initiation and developmental stages in sweet cherry (*Prunus avium*) under water deficit. *Bangladesh Journal of Botany* 37(1): 15-19.
- Esau K. (1977): *Anatomy of seed plants*. John Wiley and Sons Inc., New York.
- Fadon E., Herrero M., Rodrigo J. (2015): Flower development in sweet cherry framed in the BBCH scale. *Scientia Horticulturae* 192: 141-147.
- FAOSTAT Data Base (2017): Cherries, Production Quantity. <http://www.fao.org/faostat/en/data/QC>
- Faust M. (1989): Flower bud development-fruitletting. 4th chapter. In: 'Physiology of temperate zone fruiting trees'. John Wiley and Sons, New York: 170-234 pp.
- Faust M., Suranyi D. (2011): Origin and dissemination of Cherry. In: 'Origin and Dissemination of Prunus Crops Peach, Cherry, Apricot, Plum, Almond'. Janick J. (Ed.), Purdue University and ISHS, *Scripta Horticulturae* 11, pp. 55-101.
- Gallotta A., Palasciano M., Mazzeo A., Ferrara G. (2014): Pollen production and flower anomalies in apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae* 172: 199-205.
- García-Montiel F., Serrano M., D. Martínez-Romero D., Alburquerque N. (2010): Factors influencing fruit set and quality in different sweet cherry cultivars. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8(4), 1118-1128.
- Guimond C.M., Andrews P.K., Lang G.A. (1998): Scanning electron microscopy of floral initiation in sweet cherry. *JASHS* 123(4): 509-512.
- Hansen M. (2007): The causes and cures of doubling. *Good Fruit Grower*, 15th March.
- Hedhly A., Hormaza J.L., Herrero M. (2004): Effect of temperature on pollen tube kinetics and dynamics in sweet cherry, *Prunus avium* (Rosaceae). *American Journal of Botany* 91(4): 558-564.
- Hedhly A., Hormaza J.L., Herrero M. (2007): Warm temperatures at bloom reduce fruit set in sweet cherry. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 81, 158-164.
- Hedhly A., Hormaza J.L., Herrero M. (2009): Flower emasculation accelerates ovule degeneration and reduces fruit set in sweet cherry. *Scientia Horticulturae* 119: 455-457.
- Herrero, M. (2000): Changes in the Ovary Related to Pollen Tube Guidance. *Annals of Botany* 85 (Supplement A): 79-85.
- Horsiková J., Krška B. (2014): Evaluation of the course of microsporogenesis in some selected peach (*Prunus persica* L./Batsch) cultivars. *Acta Agriculturae Serbica*, Vol. XIX, 37 (2014): 27-39.1
- Jević S., Mićić N., Đurić G., Cerović R. (1997): Model of ecological functions of growth and development in potato. *Proc. First Balkan Symp.*, *Acta Hort.* 462: 1019-1023.
- Jia Hui-juan, X.Yang, Feng-jie HE, B. Li (2013): Anatomical studies of ovule development in the post-bloom pistils of the 'Zuili' plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)*, 4(9):800-806.
- Kapetanović N., Muratović A., Lučić P. (1970): Faze mikrosporogeneze šljive u području Sarajeva. *Jugoslovensko voćarstvo* 13: 19-26.
- Kappel F., MacDonald R. (2007): Early gibberellic acid spray increase firmness and fruit size of 'Sweetheart' sweet cherry. *JAPS* 61(1): 38-43.
- Keserović Z. (1994): Diferenciranje cvjetnih začetaka u badema. *Jugoslovensko voćarstvo* 28, 105-106: 41-46.
- Keserović Z. (1996): Embriogeneza u trešnje i višnje. *Jugoslovensko voćarstvo* 30, 113-114 (1-2): 143-150.
- Knight, R.L. (1969): Abstract Bibliography of Fruit Breeding and Genetics to 1965. *Prunus*. Commonwealth Agricultural Bureaux, The Eastern Press Ltd., of London and Reading. pp. 251-252; 310-311, 326.
- Knight V.H., Evans K.M., Simpson D.W., Tobutt K.R. (2005): Report on desktop study to investigate the current world resources in Rosaceous fruit breeding programmes. East Malling Research. www2.defra.gov.uk/science/project/data/: 1-80 pp.
- Koutinas N., Pepelyankov G., Lichev V. (2010): Flower induction and flower bud development in apple and sweet cherry. *Biotechnology & Biochemical equipment*, 24(1): 1549-1558.
- Lamp B.M., Connell J.H., Duncan R.A., Viveros M., Polito V.S. (2001): Almond flower development: Floral initiation and organogenesis. *JASHS* 126(6): 689-696.
- Lauri P.-E., Clavierie J. (2008): Sweet cherry architecture physiology and management: towards an integrated view. *Proceedings from V International Cherry Symposium, Turkey, 2005*. *Acta Horticulturae* 795: 605-614.
- Lenahan O.M., Whiting M.D. (2006): Physiological and horticultural effects of sweet cherry chemical blossom thinners. *HortScience* 41: 1547-1551.
- Li B., Xie Z., Zhang A., Xu W., Zhang C., Liu Q., Liu C., Wang S. (2010): Tree growth characteristics and flower bud differentiation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) under different climate conditions in China. *Hort. Sci. (Prague)*: 37(1): 6-13.
- Long L. (2006): Cracking a worldwide problem. *Good Fruit Grower*, Cherry World, July.
- Luedeling E. et al. (2009): Climatic changes lead to declining winter chill for fruit and nut trees in California during 1950-2009. *PLoS ONE* 4(7): e6166. doi:10.1371/journal.pone.0006166
- Lučić P., Đurić G., Mićić N. (1996): Voćarstvo I. Institut za istraživanja u poljoprivredi, Nolit, Partenon.
- Marić M. (1982): Neke agroklimatske karakteristike Pančevačkog rita. *Nauka u praksi* 12(2): 283-288.
- Measham P.F., Gracie A.J., Bound S.A., Wilson S.J. (2009): An alternative view of rain induced cracking of Sweet Cherry (*Prunus avium*

- L.). Oral presentation to the ISHS Sixth International Cherry Symposium, 15-19 November, Renaca, Chile.
- Mičić N. (1988): Proučavanje mejoze u mikrosporogenezi šljive. *Jugoslovensko voćarstvo* 22, 86/4: 305-312.
- Mičić N. (1988a): Mikrosporogeneza i karakteristike polena šljive. Magistarski rad. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Sarajevu, pp. 1-128.
- Mičić N. (1989): Mikrosporogeneza šljive. Radovi Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, XXXVII, 41: 71-86.
- Mičić N. (1992): Specijalno voćarstvo – Praktikum. Poljoprivredni fakultet Sarajevo. STEP 5 Sarajevo.
- Mičić N. (1992a): Uticaj temperaturnih uslova na pojavu sterlnih cvjetova u šljive požegače. Radovi Poljoprivrednog fakulteta, god XL, br. 44, str. 73–85.
- Mičić N. (1992b): Biološki potencijal za diferencijaciju generativnih pupoljaka u šljive. *Jugoslovensko voćarstvo* 26, 99-100: 11-16.
- Mičić N. (1992): Prilog poznavanju klasifikacije generativnih pupoljaka u voćaka. *Jugoslovensko voćarstvo* 26, 97-98: 3-13.
- Mičić N. (1993): Organogeneza šljive. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu, pp. 1-191.
- Mičić N. (1994): Mikrofenofaze u diferencijaciji cvetova kao osnova biološke kontrole u formiranju rodno potencijala šljive. *Jugoslovensko voćarstvo* 28, 107-108 (3-4): 3-10.
- Mičić (2018): REPRODUKATIVNA BIOLOGIJA – elementarno znanje u spoznaji faktora visoke produktivnosti voćaka. *Fructus*, 3(4): 1-2.
- Mičić N., Čmelik Z. (1988): Diferencijacija pupoljaka na rodnim grančicama šljive Požegače i Altanove renklode. Radovi Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, XXXVI, 40: 137-146.
- Mičić N., Jarebica DZ., Čmelik Z., Đurić G. (1987): Proučavanje morfologije polena trešnje. Poljoprivredni pregled 4-6: 49-58.
- Mičić N., Đurić G. (1995): Ciklus organogeneze šljive. *Jugoslovensko voćarstvo* 29, 111-112: 45-60.
- Mičić N., Đurić G. (1995): Zavisnost toka diferencijacije od položaja vegetativnih kupa na nodusima mladara u vrsta voćaka iz roda *Prunus*. *Jugoslovensko voćarstvo* 29, 111-112: 67-75.
- Mičić N., Đurić G. (1998): Atrofija semenih zametaka kod morfološki atipičnih cvetova šljive. *Jugosl. voćar*. Vol. 32, br. 121 – 122, str. 37–44.
- Mičić N., Đurić G. (2020): Sistemi gajenja i rezidba trešnje. U "Voćarstvo II, sistemi gajenja i rezidba: jabuka, kruška, šljiva, brekva, trešnja, kajsija, leska, malina, jagoda". Naučno voćarsko društvo Republike Srpske, Banja Luka i Partenon, Beograd: 327-390 pp.
- Mičić, N., Đurić G, Stajić N. (1990): Pojava morfološki sterlnih cvjetova u šljive. Radovi Poljoprivrednog fakulteta, god XXXVIII, 42, 138 – 148.
- Mičić N., Đurić G., Cerović R., Jevtić S. (1992): Effect of drought on the break of differentiation and abortion of generative buds in plum. *Proceedings of the International Symposium "Drought and plant production"*, Belgrade: 409-415.
- Mičić N., Đurić G., Jevtić S., Lukić P. (1996): The Basis for Defining a Model of Ecological Functions of the Organogenesis in Fruit Crops. *J. Sci. Agric. Research* 57, 203: 89-99.
- Mičić N., Đurić G., Cerović R. (1996a): Opšti aspekti proučavanja organogeneze voćaka. Uvodni referati i abstrakti X Kongresa voćara Jugoslavije, Čačak (28.X-1.XI): 120 p.p.
- Mičić N., Đurić G., Cvetković M., Marinković D. (2008): Savremeni sistemi gajenja trešnje. Zbornik naučnih radova sa XXIII Savetovanja o unapređenju proizvodnje voća i grožđa. *Gročka*, Vol. 14(5): 33-47.
- Milatović D., Đurović D., Đorđević B., Vulić T., Zec G. (2011): Pomološke osobine novijih sorti trešnje u gustoj sadnji. Inovacije u voćarstvu III savetovanje (Unapređenje proizvodnje trešnje i višnje), Zbornik radova, 163-171.
- Milatović D., Nikolić D. (2014): Uticaj temperature na klijavost polena i rast polenovih cevčica sorti višnje. *Journal of Agricultural Sciences* Vol. 59(1): 45-52.
- Mišić P.D. (1987): Opšte oplemenjivanje voćaka. Nolit, Beograd.
- Mišić P.D. (2002): Specijalno oplemenjivanje voćaka. Partenon i Institut za istraživanja u poljoprivredi, Beograd.
- Németh Sz., Szalay L., Reményi, M. L. (2008): Flower bud differentiation in apricot. *International Journal of Horticultural Science* 14(4): 19-21.
- Niederholzer F. (2015): Prune Chilling Prediction Model. http://fruitsandnuts.ucdavis.edu/Weather_Services/prune_chilling_prediction_about/
- Nikolić T. (2008): Vek (1906-2006) gročanskog voćarstva. Voćarsko-vinogradarsko društvo "Gročka", Gročka.
- Ninkovski I. (1998): Trešnja-savremeni načini podizanja, gajenja i iskoriscavanja. Potez Uno, Beograd: 3-151.
- NOVAGRIM Homepage (2017) http://www.novagrim.com/Pages/default_EN.aspx
- Oukabli A. (2004): Le ceresier-Une culture de zones d'altitude. PNITA (Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture) bulletin mensuel d'information et de liaison du pnita, No 116: 1-4 pp.
- Oukabli A., Mahhou A. (2007): Dormancy in sweet cherry (*Prunus avium* L.) under Mediterranean climatic conditions. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 11(2): 133-139.
- Penzar L., Penzar B. (1985): Agroklimatologija. Školska knjiga, Zagreb.
- Popovska M., Popovski B. (2000): Dinamika diferencijacije cvetnih pupoljaka kod nekih sorti trešnje u uslovima Skoplja. Uvodni referat i abstrakti 11. Kongresa voćara Jugoslavije sa međunarodnim učešćem, Tara (21-25. XI): 121 pp.
- Primack R.B. et al. (2009): The impact of climate change on cherry trees and other species in Japan. *Biological Conservation*, 142, 1943–1949.
- Radičević S., Cerović R., Marić S., Đorđević M., Marić S. (2008): Ispitivanje fenofaze cvetanja i klijavosti polena novijih sorti trešnje. *Voćarstvo*, 163-164: 89-95.
- Radičević S., Cerović R., Marić S., Đorđević M. (2011): Flowering time and incompatibility groups-cultivar combination in commercial sweet cherry (*Prunus avium* L.) orchards. *Genetika* 43(2): 397-406.
- Radičević S., Cerović R., Nikolić D., Đorđević M., Lukić M. (2011): Inicijalno i finalno zametanje plodova sorti trešnje u zavisnosti od tipa oprašivanja. *Voćarstvo*, 173-174: 31-37.
- Radičević S. (2013): Biologija oplodjenja i pomološke osobine novointrokovanih sorti trešnje (*Prunus avium* L.). Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet: 1-177 pp.
- Ruiz D., Campoy J. A., Egea J. (2010): Ovule development at anthesis in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) cultivars. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2010 8(1), 151-158.
- Sarısu, H.C., Askin M.A. (2014): Nucellus deformation in sweet cherry primary ovules at anthesis. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences, Special Issue* 1: 1158-1163.
- Schuster M. (2017): Self-incompatibility (S) genotypes of cultivated sweet cherries – An overview 2017. www.OpenAgrar.de DOI - 10.5073/20171213-111734
- Southwick S.M., Shackel K.A., Yeager J.T., Asai W.K., Katakich M. Jr. (1991): Over-tree sprinkling reduces abnormal shapes in 'Bing'

sweet cherries. California Agriculture, 45: 24-26.
 Southwick S.M., Shackel K., Yeager J. T. (1994): Abstr. No 087 Relationship between summer temperature and deep suture formation in Bing sweet cherry. HortScience 29(5): 440 pp.
 Southwick S.M. (1999): Cherry Crinkle-leaf and deep suture disorders. Division of Agriculture and Natural Resources, Publication 8007: 1-7.
 Stanković D.M. (1981): Trešnja i višnja. Nolit, Beograd: 5-180.
 Stanković D.M., Jovanović M.S. (1990): Opšte voćarstvo, Naučna knjiga, Beograd, 166-190 pp.
 Szalay L. (2006): Comparison of flower bud development in almond, apricot and peach genotypes. International Journal of Horticultural Science 12(2): 93-98.
 Valkanov N. (2015): Cherry Production in Bulgaria. InteliAgro, Sofia.
 Viti R., Bartolini S., Andreini L. (2008): Apricot flower bud development: Main biological, physiological and environmental aspects related to the appearance of anomalies. Int. Jour. of Plant Develop. Biol. 2(1): 25-34.
 Whiting M., Martin R. (2008): Reducing sweet cherry doubling. Good Fruit Grower, 15th february.
 Zhang C., Whiting M. (2012): The occurrence of protruding pistil in sweet cherry (*Prunus avium* L.) and its consequence on fertilization. Scientia Horticulturae 140: 149-156.

a) Ukratko istaći razlog zbog kojih su istraživanja preduzeta i cilj istraživanja;
 6) Na osnovu pregleda literature sažeto prikazati rezultate prethodnih istraživanja u vezi problema koji je istraživao;
 b) Navesti doprinos teze u rješavanju izučavane problematike;
 r) U pregledu literature treba voditi računa da obuhvata najnovija i najznačajnija saznanja iz te oblasti kod nas i u svijetu.

3. MATERIJAL I METOD RADA

- a) Ogladna stabla za istraživanje odabrana su krajem zime 2012/13. u kolekcionom zasadu trešnje Instituta PKB Agroekonomik u Padinskoj Skeli (Beograd, Srbija). Zasad je podignut je 1993. godine na podlozi divlja trešnja (*Prunus avium* L.) sa gustom sadnje 4 × 4 m. Krune stabala su oblikovane i održavane se u formi poboljšane etažne krune, a u zasadu je primjenjivana standardna agro- i pomotehnika. Ogladni zasad je lociran u neposrednoj blizini kanala Vizelj, na oko 20 km severoistočno od centra Beograda.
- Ispitivanje genotipskih specifičnosti u organogenezi reproduktivnih organa trešnje obavljeno je na sortama Rana burlatova, Stela i Drojanova žuta, kao tipičnim predstavnicima rano-, srednjerano- i poznocvetnih sorti trešanja u agroekološkim uslovima Srbije.
- U kolekcionom zasadu trešnje je odabrano po pet prosječno dobro razvijenih stabala u rodu kod ispitivanih sorti, koja su obilježena, i sa kojih su, po obodu krune i sa sve četiri strane svijeta prikupljani dobro razvijeni rodni pupoljci iz majskih kitica tokom procesa diferencijacije začetaka generativnih organa u pupoljcima (ljetu, jesen, zima, proljeće 2013., 2014. i 2015. godine) metodom slučajnog izbora, u količini 20 pupoljaka/sorti.
- b) Nakon prebacivanja u biološku laboratoriju Instituta, uzorci su konzervirani u serijama rastvora fiksativa za potrebe izrade trajnih mikroskopskih preparata. U periodu februar-april 2013-2015., tokom završnih etapa mikro- i makrofenofaza u organogenezi reproduktivnih organa trešnje, pomenuti biljni materijal za potrebe analiza je uzorkovan sa istih tipova rodni grančica na svakih 2-5 dana.
- Priprema i pravljenje trajnih mikroskopskih preparata generativnih pupoljaka trešnje sa parafinskom metodom obavljena je po sljedećoj proceduri:
- Fiksacija svježe uzorkovanog biljnog materijala (rodni pupoljci iz majskih kitica) vršena je u laboratoriji Instituta PKB Agroekonomik u modifikovanom fiksativu Navašina (hromna kiselina 1%: formalin 40%: glacialna sirćetna kiselina 99,8 %, p.a. u odnosu 10:4:1), pogodnom za fina anatomsku i embriološka ispitivanja;
 - Ispiranje uzoraka u tekućoj vodi u trajanju od 6 h u cilju pripreme materijala za mikrotehničke postupke kao i ostali elementi protokola pravljenja trajnih preparata Blaženčić (1994), obavljani su u laboratoriji za histologiju i citogenetiku Instituta za voćarstvo Poljoprivrednog fakulteta u Banjoj Luci.

Histološki preparati pregledani su pod svjetlosnim binokularom marke Nikon ERG Ni-eclipse a potom citometrijski obrađeni softverom.

Grafički prikaz dinamike procesa diferencijacije začetak cvetova u pupoljcima (Mičić, 1994), u smislu završetka razrastanja cvetnih začetaka u jednoj vegetaciji tokom perioda mirovanja i nastavak ovog procesa početkom sljedeće vegetacije, sve do fenofaze cvjetanja voćaka, poslužio je u ovom radu kao osnova za praćenje histologije diferenciranja generativnih pupoljaka u serijama izrađenih trajnih preparata. Takođe je korišćena i brojna fotodokumentacija diferencijacije generativnih pupoljaka inostranih i domaćih autora (Andreini i Bartolini, 2008; Bartolini et al., 2013; Engin, 2006; Engin i Ünal, 2007; Engin, 2008; Guimond et al., 1998; Lamp et al., 2001; Mičić et al., 1992; Németh et al., 2008).

Polen je prikupljen sa otvorenih cvjetova oglednih stabala tokom fenofaze cvjetanja ispitivanih sorti u oglednom periodu (2013-2015. godine), a potom je posijan na medijum (15% saharoze i 1% agara, 2 petrijeve kutije/sorti) i ostavljen u mraku na naklijavanje pri sobnoj temperature ($20 \pm 2^\circ\text{C}$). Kljavost polena analizirana je nakon 2, 6, 10, 24 i 48 h inkubacije u više vidnih polja na svjetlosnom mikroskopu marke Nikon ERG Ni-eclipse, pri uvećanju od 100 puta. Ocena proklijalosti izvršena je poštovanjem principa da su ona polenova zrna čija je dužina polenove cjevčice bila veća od promjera polenovog zrna-faktički klijala.

Mičić i sar. (1996) i Jevtić i sar. (1997) su razvili model za razvoj softvera koji je uključio i meteorološke podatke radi formiranja baze podataka za svaku etapu i podetapu organogeneze, s mogućnošću predviđanja dinamike razvoja određenih ekološki stresnih momenata poput suše ili ispitivane fenofaze (cvetanje). Ekološki funkcionalni model pruža mogućnost modeliranja ekoloških funkcija u ciklusu organogeneze, a srž modela predstavlja softver koji pothranjuje dnevno zabeležene meteo-podatke u 7, 14, 21:00 h i koristi ih za trenutno izračunavanje trenda po formuli: $y = a + bx_1 + cx_2 + dx_3$. Koncept ekološkog funkcionalnog modela, koji je u istraživanjima organogeneze reproduktivnih organa trešnje u ovom radu prihvaćen i primjenjivan u obračunima aktivnih i efektivnih temperatura za definisane etape mikro- i makro sporo- i geneze, koristio je biološku nulu za trešnju u vrijednosti od 5°C . Srednje dnevne temperature obračunavane su kao sredina između zbira temperatura izmjerenih u 7:00, 14:00 i duple vrijednosti temperature u 21:00.

Diferencijacija generativnih organa i tkiva, kao i redosljed i dinamika njihovog odvijanja, predstavljaju osnovu biološke kontrole rasta i razvitka u cilju adekvatne primene agro- i pomotehnike i programiranja realizacije rodnog potencijala kod voćaka. Ovaj proces je prikazan u formi algoritma konstituisanja muškog i ženskog gametofita kod 3 ispitivane sorte trešnje (Burlat, Stela i Drozanova žuta), gdje je diferencijacija tkiva i ćelija u navedenim procesima stavljena u međusobni dinamički odnos sa izlaznim fazama formiranog muškog gametofita (polena) i razvoja embriona kao osnove održivosti ploda.

- v) Primjenjene metode su adekvatne za ovaj tip istraživanja, dovoljno tačne i aktuelne, imajući u vidu dostignuća na ovom polju. Primjenjene metode su omogućile poređenje rezultata dobijenih u ovom istraživanju sa rezultatima drugih autora iz sličnih istraživanja.
- g) Došlo je jedino do promjene vremena završetka istraživanja, zbog uništavanja eksperimentalnog zasada u kome je postavljen ogled u poslednjoj godini uzorkovanja, zbog čega je bilo potrebno ponoviti istraživanje u zasadu na drugoj lokaciji. Senat Univerziteta u Banjoj Luci je odlukom broj 02/04-3.1082-41/21 od 28. maja 2020. godine odobrio produženje roka za izradu i doradu doktorske do 1. juna 2021. godine.
- d) Provedena istraživanja i ispitivani i obrađeni parametri genotipskih specifičnosti u

- organogenezi reproduktivnih organa tri sorte trešnje u periodu 2013 -2015. godina omogućili su pouzdanost rezultata istraživanja.
- e) Statistička (biometrička) obrada podataka je korektna, a određena je u skladu sa predmetom i metodom istraživanja.
- ž) Dobijeni rezultati jasno su prikazani i diskutovani.
- a) objasniti materijal koji je obrađivan, kriterijume koji su uzeti u obzir za izbor materijala;
- b) dati kratak uvid u primjenjeni metod rada pri čemu je važno ocijeniti sljedeće:
- б) da li su primjenjene metode adekvatne, dovoljno tačne i savremene, imajući u vidu dostignuća na tom polju u svjetskim nivoima;
- г) da li je došlo do promjene u odnosu na plan istraživanja koji je dat prilikom prijave doktorske teze, ako jeste zašto;
- д) da li ispitivani parametri daju dovoljno elemenata ili je trebalo ispitivati još neke, za pouzdano istraživanje;
- e) da li je statistička obrada podataka adekvatna;
- ж) da li su dobiveni rezultati jasno prikazani;

4. REZULTATI I NAUČNI DOPRINOS ISTRAŽIVANJA

- a) Na osnovu analize ciklusa organogeneze kod trešnje (*Prunus avium* L.), kao i genotipske specifičnosti u obrazovanju i funkcionalnoj sposobnosti muških i ženskih reproduktivnih organa kod tri sorte (Burlat, Droanova žuta i Stela) tokom trogodišnjeg oglednog perioda (2013–2015) u ravničarskom delu regiona Beograda (Padinska Skela), mogu se izvesti sljedeći zaključci:
- Rane etape organogeneze kod rodni pupoljaka trešnje odvijaju se po uobičajenoj matrici godišnjeg ciklusa, sinhronizovano i sukcesivno, kako na nivou osnovne jedinice rodosti (rodnog pupoljaka u nastanku) tako i na nivou osnovnih faktora varijabilnosti (sorti i godina).
 - Praćenje toka i dinamike proučavanih mikrofenofaza u mikrosporo- i gametogenezi trešnje od početka mikrosporigeneze do pojave mladog polena kod ispitivanih sorti, pokazalo je kako je sortama bilo potrebno 14–15 dana u rano proljeće za obavljanje ovih procesa, s prosječnim zbirom sume aktivnih temperatura od 184° C.
 - Kretanje suma aktivnih temperatura, kada se radi o pojedinim mikrofenofazama ukazalo je na određene sortne specifičnosti: Sorta Burlat je za nijansu sporije prolazila kroz prve dve mikrofenofaze u mikrosporigenezi, ali je taj trend bio dijametralno suprotan kada se radi o brzom prolasku kroz fazu tetrađa. Naime, raspon aktivnih temperatura koje su vodile kroz ovu mikrofenofazu bio je 3–4 puta veći od istog kod ostalih sorti u ogledu. Sorta Droanova žuta kao najpoznocvetnija u ogledu neprimjereno brzo je ušla u proces mikrosporigeneze, sa oko 3 puta većim rasponom suma aktivnih temperatura na nivou ogledne godine u odnosu na ostale sorte u ispitivanju.
 - Ispitivanje klijavosti polena u *in vitro* uslovima, kao mjera regularnosti toka diferenciranja muških elemenata cvijeta pokazala je relativno visoku prosečnu vrednost klijavosti polena kod ispitivanih sorti (preko 42 %), ali je klijavost dosta varirala kada se posmatraju osnovni faktori varijabilnosti (sorte i godine).
 - Praćenje toka proučavanih mikrofenofaza u organogenezi trešnje, počevši od početka makrosporigeneze do pojave konstituisanog jajnog aparata kod ispitivanih sorti trešnje u Padinskoj Skeli ukazalo je sortama bilo potrebno prosječno oko 46 dana sa prosječnom sumom aktivnih temperatura od 502° C. Posmatrane fenofaze u ogledu najranije su se odvijale u 2014., a najkraće trajale u 2015. godini.
 - U pogledu kretanja sume aktivnih temperatura tokom dvije zabilježene makrofenofaze kod sorti u ogledu koje su pratile pomenute procese u konstituisanju ženskog gametofita, interesantna su bila dva momenta: sorta Stela je vrlo brzo prošla

kroz fenofaze bijelih glavica i punog cvjetanja, a raspon suma aktivnih temperatura neophodnih za proticanje fenofaza bio je najveći i najmanji u ogledu (18,3° C za bijele glavice i 12,1° C za puno cvjetanje); sorta Burlat je, s druge strane, najbrže u ogledu prošla kroz fenofazu punog cvjetanja, a da je pritom raspon suma aktivnih temperatura bio gotovo dva puta veći u odnosu na ostale sorte (29,3° C).

- Izrađene algoritamske šeme redosljeda i dinamike diferencijacije ćelija i tkiva u procesu organogeneze muških i ženskih reproduktivnih organa kod ispitivanih sorti za svaku oglednu godinu i raspoređenih precizno na vremenskoj skali, predstavljaju matricu za praćenje i upoređivanje tokova determinisanih procesa na nivou sorte u cilju eksplicitnog pozicioniranja odgovarajućih agro- i pomotehničkih mera u strogo određenom trenutku. Ovim pristupom definiše se biološka kontrola vezana za odgovarajuće formiranje meristematskih struktura i diferencijaciju tkiva i organa, kroz sumiranje ekoloških parametara u njihovom toku iskazanom na algoritamskoj osnovi, a što je i bio značajan deo ovog proučavanja.
- Na oglednoj lokaciji, tokom proširenih istraživanja vezanih za ovu tezu registrovana je pojava izmrzavanja pupoljaka tokom ranog proljeća. Ubrzanje organogeneze rodni pupoljaka pod dejstvom aktivnih temperatura bilo je izraženije kod sorti ranijeg cvjetanja (Burlat i Stela), pa su stoga kod njih zabilježena i veća izmrzavanja (preko 28 %) u odnosu na poznocvjetajuću Droganovu žutu (svega 4 % izmrzlih cvetova).
- b) Upoređujući sa rezultatima drugih autora, rezultati dobijeni u ovoj doktorskoj disertaciji su razumljivo i logično postavljeni, jasno i pravilno protumačeni. Kandidat je u radu ispoljio dovoljno samostalnosti i kritičnosti, te donio konkretne prijedloge i opise posmatranih procesa.
- v) Saznanja do kojih se došlo ispitivanjem sortnih specifičnosti u organogenezi reproduktivnih organa trešnje u trogodišnjem oglednom periodu (2013–2015) na lokaciji Padinske Skele (okolina Beograda) a koja se tiču različitih aspekata reproduktivne biologije trešnje u funkciji realizacije rodnog potencijala ispitivanih sorti, trebalo bi da budu obavezni deo savremenog pristupa u tehnologiji gajenja trešnje, kako bi se potencijalni rizici u proizvodnji sveli na najmanju moguću meru. Ovdje se prije svega misli na veliki kompleks faktora vezanih za zametanje ploda koji se moraju dovesti u odgovarajući funkcionalni odnos sa sistemom gajenja i nivoom primjenjene agro- i pomotehnike, kao i postojećim ekološkim faktorima koji ograničavaju rodni potencijal trešnje.
- a) Ukratko navesti rezultate do kojih je kandidat došao;
- b) Ocijeniti da li su dobiveni rezultati pravilno, logično i jasno tumačeni, upoređujući sa rezultatima drugih autora i da li je kandidat pri tome ispoljavao dovoljno kritičnosti;
- b) Posebno je važno istaći do kojih novih saznanja se došlo u istraživanju, koji je njihov teorijski i praktični doprinos, kao i koji novi istraživački zadaci se na osnovu njih mogu utvrditi ili nazirati.

5. ZAKLJUČAK I PRIJEDLOG

- a) Urađena doktorska disertacija "Genotipske specifičnosti u organogenezi reproduktivnih organa trešnje *Prunus avium* L." predstavlja samostalan rad kandidata i djelo pisano razumljivim, prihvatljivim i konciznim jezikom i stilom. Disertacija je pregledna i tehnički usklađena sa propisanim uputstvima i pravilima pisanja doktorske disertacije. Komisija ovu disertaciju ocjenjuje pozitivnom ocjenom.
- Analizirajući naučni i stručni doprinos urađene doktorske disertacije, smatramo potrebnim i važnim istaći da je kandidat, teorijski, eksperimentalno i naučno jako dobro obradio temu i predmet istraživanja. Tema je aktuelna, posebno u svjetlu promjene klimatskih uslova koji mogu uticati ne samo na ciklus zimskog mirovanja, već i na cjelokupnu fiziologiju trešnje, posebno zbog pojave sterilnosti usljed nepovoljnih

uslova spoljašnje sredine (ekološka sterilnost).

Obimom praktičnih istraživanja (tri godine eksperimentalnog rada, uzorkovanje), eksperimentalnim radom (izrada trajnih preparata, primjena koncepta ekološkog funkcionalog modela) i radom na prikupljanju dostupne literaturne građe kandidat je pokazao istraživačku upornost i sposobnost za analizu i predstavljanje dobijenih rezultata.

Doktorska disertacija "Genotipske specifičnosti u organogenezi reproduktivnih organa trešnje *Prunus avium* L." predstavlja originalni naučni rad. Komisija je dobila uvjerenje da je izvršena provjera originalnosti teksta doktorske disertacije i da je prilikom te provjere potvrđena njegova originalnost u skladu sa propisima kojima se reguliše ta materija. Na osnovu ukupne pozitivne ocjene urađene disertacije Komisija predlaže da se ova disertacija prihvati i kandidatu mr Dejanu Marinkoviću odobri javna odbrana.

- a) Navesti najznačajnije činjenice što tezi daje naučnu vrijednost, ako iste postoje dati pozitivnu vrijednost samoj tezi;
- 6) Ako je prijedlog negativan, treba dati opširnije obrazloženje i dokumentovano ukazati na učinjene propuste, odnosno nedostatke napisane doktorske teze.

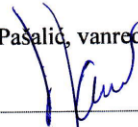
Banja Luka - Bihać, 09.03.2021.

POTPIS ČLANOVA KOMISIJE

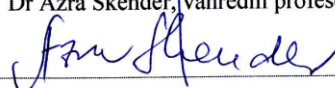
1. Dr Gordana Đurić, redovni profesor



2. Dr Boris Pašalić, vanredni profesor



3. Dr Azra Skender, vanredni profesor



4. _____

5. _____

6. _____

IZDVOJENO MIŠLJENJE: Član komisije koji ne želi da potpiše izvještaj jer se ne slaže sa mišljenjem većine članova komisije, dužan je da unese u izvještaj obrazloženje, odnosno razlog zbog kojih ne želi da potpiše izvještaj.

IZJAVA 1

IZJAVA O AUTORSTVU

Izjavljujem
da je doktorska disertacija

Naslov rada

GENOTIPSKE SPECIFIČNOSTI U ORGANOGENEZI REPRODUKTIVNIH ORGANA
TREŠNJE (*Prunus avium* L.)

Naslov rada na engleskom jeziku

GENOTYPIC SPECIFICITIES IN THE ORGANOGENESIS OF REPRODUCTIVE
ORGANS OF SWEET CHERRY (*Prunus avium* L.)

Rezultat sopstvenog istraživačkog rada,

da doktorska disertacija, u cjelini ili u dijelovima, nije bila predložena za dobijanje bilo koje
diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,

da su rezultati korektno navedeni i

da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

U Banjoj Luci 19.04.2021.

Potpis doktoranta



IZJAVA 2

Izjava kojom se ovlašćuje Univerzitet u Banjoj Luci
da doktorsku disertaciju učini javno dostupnom

Ovlašćenjem Univerzitet u Banjoj Luci da moju doktorsku disertaciju pod naslovom
GENOTIPSKE SPECIFIČNOSTI U ORGANOGENEZI REPRODUKTIVNIH ORGANA
TRBŠNJE (*Prunus avium* L.)

koja je moje autorsko djelo, učini javno dostupnom.

Doktorsku disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno
arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci mogu
da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice
(Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo – nekomercijalno
- ☒ 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerađe
4. Autorstvo – nekomercijalno – dijeliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerađe
6. Autorstvo – dijeliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jedan od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na početini
lista).

U Banjoj Luci 19.4.2021.

Potpis doktoranta



IZJAVA 3

Izjava o identičnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije

Ime i prezime autora: Dejan Marinković

Naslov rada GENOTIPSKE SPECIFIČNOSTI U ORGANOGENEZI REPRODUKTIVNIH
ORGANA TREŠNJE (*Prunus avium* L.)

Mentor Prof. dr Nikola Mičić

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije identična elektronskoj verziji
koju sam predao/la za digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci.

U Banjoj Luci 4.04.2021

Potpis doktoranta

