

Биолошки факултет
Број захтева: 33/189-1
Датум: 11.9.2015.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији за кандидата на докторским студијама

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11-пречишћени текст, 167/12, 172/13 и 178/14), дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији:

КАНДИДАТ: **Светлане М. Тошић**

студент докторских студија на студијском програму Биологија, Експериментална и примењена ботаника.

пријавио је докторску дисертацију под називом:

„Физиолошки и биохемијски аспекти регенерације ендемичних врста *Micromeria pulegium* (Rochel) Benth. и *Micromeria croatica* (Pers.) Schott *in vitro*“.

из научне области: Биолошке науке.

Универзитет је дана 28.05.2015. године. својим актом под бр. 02 Број: 61206-2331/2-15 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

„Физиолошки и биохемијски аспекти пропације ендемичних врста *Micromeria pulegium* (Rochel) Benth. и *Micromeria croatica* (Pers.) Schott *in vitro*“.

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 10.07.2015. год, одлуком Факултета под бр. 33/176-10.07.2015. год. у саставу:

	Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1.	др Драгана Стојичић	ванредни професор	физиологија биљака и ботаника	Универзитет у Нишу- Природно-математички факултет
2.	др Душица Јаношевић	ванредни професор	физиологија и молекуларна биологија биљака	Универзитет у Београду- Биолошки факултет
3.	др Весна Станков- Јовановић	ванредни професор	аналитичка хемија	Универзитет у Нишу- Природно-математички факултет
4.	др Бојан Златковић	доцент	ботаника	Универзитет у Нишу- Природно-математички факултет
5.	др Тијана Цветић- Антић	доцент	физиологија и молекуларна биологија биљака	Универзитет у Београду- Биолошки факултет

Напомена: уколико је члан Комисије у пензији навести датум пензионисања.

Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 11. септембра 2015. године.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

Прилог: 1. Реферат комисије са предлогом.

2. Акт Наставно-научног већа факултета о усвајању реферата

3. Примедбе дате у току стављања реферата на увид у јавности, уколико је таквих примедби било.

4. Електронска верзија.



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
БИОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Студентски трг 16
11000 БЕОГРАД
Република СРБИЈА
Тел: +381 11 2186 635
Факс: +381 11 2638 500
Е-пошта: dekanat@bio.bg.ac.rs

33/189-11.9.2015.

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 59. став 1. тачка 1. Статута Универзитета у Београду-Биолошког факултета, Наставно-научно веће Факултета, на X редовној седници одржаној 11.9.2015. године, донело је

О Д Л У К У

Прихвата се Извештај Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације кандидата:

Светлане Тошић, под називом:

„Физиолошки и биохемијски аспекти пропагације ендемичних врста *Micromeria pulegium* (Rochel) Benth. и *Micromeria croatica* (Pers.) Schott *in vitro*“.

Универзитет је дана 28.05.2015. године. својим актом под бр. 02 Број: 61206-2331/2-15 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације кандидата.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја:

Bulatović M, Maksimović-Ivanić D, Bensing C, Gómez-Ruiz S, Steinborn D, Schmidt H, Mojić M, Korać A, Golić I, Pérez-Quintanilla D, Momčilović M, Mijatović S, Kaluđerović G. Organotin(IV)-Loaded Mesoporous Silica as a Biocompatible Strategy in Cancer Treatment. Angew Chem Int Ed. 2014, 53:5982-5987. (M21)

Bulatović M, Kaluđerović M, Mojić M, Zmejkovski B, Hey-Hawkins E, Vidaković M, Grdović N, Kaluđerović G, Mijatović S, Maksimović-Ivanić D. Improved in vitro antitumor potential of (O,O'-Diisobutyl-ethylenediamine-N,N'-di-3-propionate) tetrachloridoplatinum(IV) complex under normoxic and hypoxic conditions. Eur J Pharmacol. 2015; 760:136-44. (M22)

Декан Биолошког факултета

Доставити:

- Универзитету у Београду,
- докторанту,
- Стручној служби Факултета.

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На IX редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 10.07.2015. године, прихваћен је извештај ментора др Драгане Стојичић и др Душице Јаношевић о урађеној докторској дисертацији Светлане М. Тошић, асистента Природно - математичког факултета у Нишу, под насловом „**Физиолошки и биохемијски аспекти пропагације ендемичних врста *Micromeria pulegium (Rochel) Benth.* и *Micromeria croatica (Pers.) Schott in vitro*“**“, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Драгана Стојичић, ванредни професор, Универзитет у Нишу - Природно-математички факултет, Департман за биологију и екологију; др Душица Јаношевић, ванредни професор, Универзитет у Београду - Биолошки факултет; др Весна Станков Јовановић, ванредни професор, Универзитет у Нишу - Природно-математички факултет, Департман за хемију; др Бојан Златковић, доцент, Универзитет у Нишу - Природно-математички факултет, Департман за биологију и екологију и др Тијана Цветић Антић, доцент, Универзитет у Београду - Биолошки факултет.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација Светлане М. Тошић под називом „**Физиолошки и биохемијски аспекти пропагације ендемичних врста *Micromeria pulegium (Rochel) Benth.* и *Micromeria croatica (Pers.) Schott in vitro*“**“, урађена је у лабораторијама Природно-математичког факултета Универзитета у Нишу, у лабораторијама Одељења за физиологију биљака Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Универзитета у Београду и у лабораторијама Катедре за ботанику Фармацеутског факултета, Универзитета у Београду.

Рад је написан на укупно 163 страна и организован у седам основних поглавља: Увод (30 страна), Циљ (1 страна), Материјал и методе (16 страна), Резултати (54 страна), Дискусија (26 страна), Закључци (2 стране) и Литература (34 страна, 349 библиографских јединица). Дисертација садржи 34 слике, 2 хистограма, 6 графика и 18 табела, Насловну страну на српском и енглеском језику, Податке о менторима и члановима комисије, Захвалницу, Резиме на српском и енглеском језику, Садржај, Списак скраћеница (укупно 15 страна).

У прилогу су дати: Биографија аутора, Изјава о ауторству, Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада, Изјава о коришћењу (укупно 5 страна).

Анализа докторске дисертације:

У оквиру докторске дисертације Светлана Тошић је испитивала ефекате регулатора растења на морфогенезу и продукцију етарских уља ендемичних врста *Micromeria pulegium* (Rochel) Benth. и *Micromeria croatica* (Pers.) Schott *in vitro*. Род *Micromeria* обухвата ароматичне врсте које, углавном, садрже значајне количине етарских уља. Коришћење ароматичних и ендемичних врста биљака у фармацеутске или научно истраживачке сврхе угрожава њихов опстанак на природним стаништима. Због тога методе *in vitro* могу бити користан алат за обезбеђивање довољне количине биљног материјала за различита научна истраживања, за њихово умножавање у циљу заштите и обнављања природних популација. Процес регенерације биљака *in vitro* регулисан је генетичким, хормоналним и физичким факторима. Егзогено примењени регулатори растења могу утицати на морфогенезу *in vitro*, али и на метаболизам различитих секундарних метаболита. Регенерисане биљке, задржавају способност продукције секундарних метаболита, чији је састав, у контролисаним *in vitro* условима стабилан и предвидљив. Након успостављања протокола за регенерацију биљака *in vitro*, анализирани су морфолошке и биохемијске карактеристике, као и антиоксидативна и антимикуробна својства екстракта изолованих из регенерисаних биљака *M. pulegium* и *M. croatica*.

Како је класификација рода *Micromeria* током дужег периода предмет интезивних дискусија у првом делу **Увода** дисертације кандидаткиња даје детаљан преглед литературе из области систематике рода *Micromeria*, као и опште карактеристике врста *Micromeria pulegium* (*Clinopodium pulegium*) и *Micromeria croatica*. Према литературним подацима продукти секундарног метаболизма, осим што имају значајну улогу у растењу и развићу биљака, показују и бројне биолошке и фармаколошке активности. Биолошка активност врста из рода *Micromeria* приписује се углавном терпеноидним и фенолним једињењима. Етарска уља и екстракти многих врста из фамилије *Lamiaceae* поседују антиоксидативно, антимикуробно, антивирално, цитотоксично дејство, па је посебан акценат стављен на састав, разноврсност и значај секундарних метаболита односно, етарских уља рода *Micromeria*. Увођењем у културу *in vitro*, односно успостављање оптималних услова за растење и развиће врста *M. pulegium* и *M. croatica*, обезбеђује се биљни материјал ослобођен од вируса и патогена, као и контролисана продукција секундарних метаболита. Да би се повећала синтеза секундарних метаболита *in vitro* могу се користити различите биотехнолошке стратегије: квалитативна и квантитативна манипулација саставом хранљиве подлоге, оптимизација физичких фактора средине, употреба елицитора, генетичка трансформација итд. Концентрација регулатора растења у подлози је значајан фактор у продукцији и акумулацији метаболита. Тип и концентрација ауксина или цитокинина као и однос ауксин/citoкинин утичу не само на растење и развиће биљака, већ и на синтезу секундарних метаболита *in vitro*.

У поглављу **Циљеви** су изложени следећи циљеви истраживања: а) испитавање ефекта регулатора растења на пропацију ендемичних врста *M. pulegium* и *M. croatica in vitro*; б) анализа морфолошких карактеристика регенерисаних изданака; в) анализа биохемијских карактеристика регенерисаних изданака: квантитативна и квалитативна анализа етарских уља, хемијског састава метанолних, етил-ацетатних и хексанских екстракта биљака из природе и регенерисаних биљака *M. pulegium* и *M. croatica in vitro*; г) анализа антиоксидативних и антимикуробних својстава екстракта биљака из природних популација као и биљака које су регенерисане *in vitro*.

У поглављу **Материјал и методе** јасно и детаљно су описане методе и услови под којима су гајене биљке и извођени експерименти: а) *in vitro* технике за успостављање асептичних култура и комплетну регенерацију биљака; б) технике скенирајуће електронске микроскопије и светлосне микроскопије коришћене за микроморфолошку и хисто-цитолошку анализу трихома регенерисаних изданка; в) методе гасне хроматографије и масене спектрометрије коришћене су за анализу хемијског састава етарских уља *in vitro* биљног материјала, као и биљног материјала сакупљеног из природе; г) методом течне хроматографије и масене спектрометрије анализиран је хемијски састав метанолних, етил-ацетатних и хексанских екстраката *in vitro* регенерисаних и из природе сакупљених изданка; д) процена биолошке активности, заснована на одређивању антиоксидативне активности екстраката добијених од изданка регенерисаних у условима *in vitro* и из природе обављена је применом тестова: DPPH, ABTS, одређивањем укупне редукционе моћи, одређивањем укупних флавоноида и одређивањем укупних полифенола; ђ) микродилуциона метода коришћена је за одређивање антимикуробне активности екстраката ове две биљне врсте; е) анализа добијених резултата обављена је одговарајућим статистичким методама (анализа варијансе и *multiple range test* - ANOVA).

Резултати обухватају неколико целина. Прва целина садржи резултате анализе утицаја регулатора растења на успостављање културе *in vitro*, индукције аксиларних пупољака, умножавања и оживљавања изданка и аклиматизације биљака *M. pulegium* и *M. croatica*. Друга целина садржи микроморфолошку и хисто-цитолошку анализу трихома листова *Micromeria* гајених у условима *in vitro*. Трећа целина се односи на хемијску анализу етарских уља биљака из природе, изданка гајених на хранљивој подлози без регулатора растења и на подлози на којој је остварен највећи принос биомасе. Такође, резултати обухватају хемијске анализе екстраката *M. pulegium* и *M. croatica*, анализу а антиоксидативне и антимикуробне активност екстраката. Резултати експеримената су приказани у форми табела, хистограма и слика.

Дискусија је поглавље дисертације у коме кандидаткиња исцрпно, стручно и свеобухватно пореди добијене резултате са резултатима из релевантне и најновије литературе.

Закључци ове дисертације су директно изведени из добијених експерименталних резултата и потом обрађених података. У одговору на постављене циљеве и задатке ове докторске дисертације Комисија издваја следеће: Ефекат фитохормона на регенерацију биљака *in vitro* зависи у великој мери од биљне врсте, типа и концентрације примењеног фитохормона. Регенеративни одговор *M. pulegium* је био бољи на подлогама које су садржале ВА. Највећи број аксиларних пупољака по експлантату постигнут је на подлози са 0,3 μM ВА, док је највећи принос свеже биомасе постигнут је на подлози која је садржала 10 μM ВА. За разлику од *M. pulegium*, најбољи регенеративни одговор *M. croatica* постигнут је у присуству кинетина. Највећи број аксиларних пупољака по експлантату *M. croatica* и највећи принос биомасе постигнут је на МС хранљивој подлози са 0,3 μM кинетина. Анализа етарских уља обе врсте показала је висок садржај монотерпена, код *M. pulegium* са доминантним пулегоном и ментоном. Пулегон је најзаступљенији у уљу биљака из природе, а ментон у уљу пореклом од изданка *M. pulegium* гајених *in vitro* на подлогама без хормона. Присуство ВА у хранљивој подлози

смањује садржај пулегона у уљу *M. pulegium* за 15% у односу на биљке из природе, али повећава за 14% у односу на уља изданака који су гајени *in vitro* без фитохормона. У уљу биљка из природе *M. croatica* скоро су подједнако заступљени монотерпени (44,61%) и сесквитерпени (44,37). Хемијски састав етарских уља изданака *M. croatica* гајених *in vitro* и биљака које су расле на природном станишту се разликује квантитативно и квалитативно. У уљима изданака *M. croatica* гајених *in vitro* садржај монотерпена је већи у односу на уља биљака из природе, а садржај сесквитерпена мањи. У уљу *in vitro* гајених изданака су заступљене компоненте које нису присутне у уљу биљака из природе: α -тујен, сабинен, 6-метил-5-хептен-2-он, мирцен, *p*-цимен, *o*-цимен, алло-аромадендрен, абиетатриен и *trans*-феругинол. Хемијском анализом екстраката *M. pulegium* и *M. croatica* идентификована су једињења заједничка за екстракте *M. pulegium* односно *M. croatica* из природе и културе *in vitro*. Код *M. pulegium* 42,22% једињења је заједничко за биљни материјал пореклом из природе и културе *in vitro*. Узорци *M. croatica* различитог порекла садрже 66,65% заједничких једињења.

Литература обухвата списак од 349 цитираних библиографских јединица. Коришћени литературни наводи су релевантни и свеобухватни, што указује на студиозан рад кандидаткиње током анализе добијених резултата ове докторске дисертације. Публикације су цитиране адекватно и на одговарајућим местима у тексту дисертације, тако да доприносе објашњењу добијених резултата.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **М 23** **Tošić, S.**, Stojičić, D., Stankov-Jovanović, V., Mitić, V., Mihajilov-Krstev, Zlatković, B. (2015). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of micropropagated and native *Micromeria pulegium* (Lamiaceae) extract. *Oxidation Communications* 38 (1): 55-66.

Б2. Радови у часописима домаћег значаја

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

Б4. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

2. **М 64** **Tošić, S.**, Stojičić, D., Zlatković, B., Mitrović, T., Stamenković, S. Spasić, J., Šelmić, N. (2013). Micropropagation of *Micromeria pulegium*. 11th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions, Vlasina, 76.

Мишљење и предлог Комисије:

На основу увида у докторску дисертацију кандидаткиње **Светлане М. Тошић**, под насловом „**Физиолошки и биохемијски аспекти пропагације ендемичних врста *Micromeria pulegium* (Rochel) Benth. и *Micromeria croatica* (Pers.) Schott *in vitro***“, као и на основу увида у њен рад током реализације ове докторске дисертације, Комисија закључује да су постављени циљеви ове тезе реализовани у потпуности коришћењем одговарајућих савремених метода, а резултати јасно представљени и на адекватан начин илустровани. У току израде дисертације кандидаткиња је развила и усавршила протоколе за *in vitro* пропагацију *M. pulegium* и *M. croatica*, што је омогућило фитохемијску идентификацију главних група секундарних метаболита. Обзиром на значај и потенцијалну улогу секундарних метаболита, резултати ове тезе могу проширити сазнања о факторима који утичу на синтезу и повећање продукције фармацеутски важних једињења. Кандидаткиња је током израде докторске дисертације показала самосталност у планирању и извођењу експеримената, као и познавање научних области коју задата тема обухвата.

На основу свега изложеног, задовољство нам је да предложимо Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену Комисије и одобри кандидаткињи **Светлани М. Тошић** јавну одбрану докторске дисертације под насловом „**Физиолошки и биохемијски аспекти пропагације ендемичних врста *Micromeria pulegium* (Rochel) Benth. и *Micromeria croatica* (Pers.) Schott *in vitro***“.

У Београду, 30. 06. 2015. године

КОМИСИЈА:

др **Драгана Стојичић**, ванредни професор,
Универзитет у Нишу, Природно-математички
факултет, Департман за биологију и екологију

др **Душица Јаношевић**, ванредни професор,
Универзитет у Београду, Биолошки факултет

др **Весна Станков Јовановић**, ванредни професор,
Универзитет у Нишу, Природно-математички
факултет, Департман за хемију

др **Бојан Златковић**, доцент,
Универзитет у Нишу, Природно-математички
факултет, Департман за биологију и екологију

др **Тијана Цветић Антић**, доцент,
Универзитет у Београду, Биолошки факултет