

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

Предмет: Извештај Комисије за преглед и оцену докторске дисертације **Вере Б. Видаковић**, истраживача сарадника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду

На редовној седници Наставно-научног већа Хемијског факултета Универзитета у Београду одржаној 08.02.2018. године, одређени смо у Комисију за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације дипломираног биохемичара **Вере Б. Видаковић**, истраживача сарадника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду, пријављене под називом „**Садржај диарилхептаноида у кори црне (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) и сиве јове (*Alnus incana* (L.) Moench) као индикатор таксономске и популационе варијабилности**“. На основу прегледане дисертације подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Приказ садржаја дисертације

Докторска дисертација **Вере Видаковић** под наведеним насловом написана је на 117 страна формата А4, проред 1,5. Садржи 36 слика и 17 табела. Дисертација обухвата следећа поглавља: 1. *Увод* (1 страна), 2. *Опити део* (29 страна), 3. *Циљеви рада* (1 страна), 4. *Материјал и методе* (12 страна), 5. *Наши радови* (47 страна), 6. *Закључци* (3 стране), *Литература* (23 стране, 208 цитата) и *Биографија* (1 страна). Поред наведеног, рад садржи *Извод* на српском (2 стране) и енглеском језику (2 стране) и *Садржај* (3 стране).

У Уводу кандидаткиња истиче значај испитивања популационе варијабилности *Alnus* spp. на подручју Србије и Резервата биосфере „Голија-Студеница“.

У *Општем делу* представљене су основне карактеристике подручја истраживања – планине Голије. Дате су основне карактеристике фамилије Betulaceae, кратак опис рода *Alnus* Mill. са подацима о примени различитих врста из овог рода, као и опште карактеристике и еколошки значај испитиваних врста – *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (црна јова) и *Alnus incana* (L.) Moench (сива јова) и хибрида између ових врста, *Alnus* × *pubescens* Tausch. Истакнут је значај морфологије листова у систематици рода *Alnus* и предности геометријске морфометрије као методе за квантитативну анализу варијација облика. Наведене су опште карактеристике коре дрвенастих врста. Описана су својства секундарног метаболизма, циљ и смисао хемијских истраживања коре и значај хемосистематике. Дат је преглед диарилхептаноида, секундарних метаболита широко распрострањених у фамилији Betulaceae. Описане су биолошке активности ових једињења, биосинтеза и могућност примене у хемотаксономским истраживањима. На крају је истакнут значај популационо-хемијских истраживања.

У оквиру поглавља *Циљеви рада* приказани су основни научни циљеви истраживања: 1) испитивање варијабилности и односа популација унутар и између врста *A. glutinosa* и *A. incana* на основу концентрације диарилхептаноида у кори природних популација, 2) испитивање сезонске варијабилности диарилхептаноида у кори врста *A. glutinosa* и *A. incana*, 3) процена хемотаксономског значаја диарилхептаноида у испитиваним врстама, 4) процена могућности примене диарилхептаноида у детекцији спонтаних хибрида између ове две врсте, 5) испитивање варијабилности облика, величине и нерватуре листа у популацијама *A. glutinosa* и *A. incana*, 6) процена спонтане хибридизације између ове две врсте на основу морфологије листа.

У поглављу *Материјал и методе* дат је опис узорковања популација, одређене су географске и орографске карактеристике станишта, наведене су коришћене експерименталне технике, инструменти и хемикалије и описан је поступак геометријске морфометријске анализе. Међупопулациона варијабилност концентрације диарилхептаноида испитана је помоћу параметарских (анализа варијансе, ANOVA) и непараметарских (Kruskal-Wallis) тестова, анализе главне компоненте (PCA) и

дискриминантне анализе (DA). Облик листова описан је са 15 конфигурационих тачака које су коришћене у методама геометријске морфометрије. Додатно је измерен број парова секундарних нерава (SN) за сваки лист. Морфолошка варијабилност листова испитана је помоћу PCA, DA, ANOVA, методе делимичних најмањих квадрата (PLS) и мултиваријационе регресије.

У делу *Наши радови* кандидаткиња даје преглед и тумачи добијене резултате по целинама повезујући их са литературним подацима. Приказани су резултати испитивања хемоваријабилности (на основу концентрације одабраних диарилхептаноида у кори) и морфолошке варијабилности листова *A. glutinosa* и *A. incana*. Дати су резултати испитивања варијабилности диарилхептаноида унутар и између природних популација и врста *A. glutinosa* (Прилички кисељак, Римски мост) и *A. incana* (Голијска река, Саставци). Приказани су резултати испитивања сезонске варијабилности ових једињења која је анализирана у популацијама Римски мост (*A. glutinosa*) и Саставци (*A. incana*) узоркованим у јуну 2015. и априлу 2016. године. Хемотаксономски значај диарилхептаноида и могућност њихове примене у детекцији спонтаних хибрида утврђени су поређењем популација Римски мост и Саставци. Дати су резултати испитивања интра- и интерспецијске варијабилности облика, нерватуре и величине листова. На крају је изведена дискусија свих добијених резултата уз посебан осврт на значај интраспецијског диверзитета у одговору биљних врста на глобалне климатске промене.

У поглављу *Закључци* су сумирани резултати и изведени закључци истраживања: 1) утврђена је сезонска, унутарпопулациона, међупопулациона и интерспецијска варијабилност диарилхептаноида у кори; 2) утврђен је хемотаксономски значај диарилхептаноида на интерспецијском нивоу и могућност њихове употребе у диференцијацији врста; 3) утврђена је могућност примене диарилхептаноида у детекцији спонтаних хибрида; 4) одређена је унутарпопулациона, међупопулациона и интерспецијска варијабилност облика листова; 5) утврђена је могућност примене геометријске морфометрије за детекцију хибридних јединки.

Литература обухвата 208 радова релевантних за област истраживања који покривају све делове дисертације.

2. Кратак опис постигнутих резултата

У оквиру докторске дисертације испитане су варијабилност концентрације диарилхептаноида у кори и морфолошка варијабилност листа четири популације врста *A. glutinosa* (Прилички кисељак, Римски мост) и *A. incana* (Голијска река, Саставци), применом метода мултиваријационе анализе.

Помоћу високоефикасне течне хроматографије – тандемне масене спектрометрије (UHPLC-MS/MS) одређена је концентрација диарилхептаноида у етанолним екстрактима коре. Први увид у квантитативну дистрибуцију одабраних диарилхептаноида дале су популације Римски мост (*A. glutinosa*) и Саставци (*A. incana*). Добијено је јасно раздвајање врста, чиме је утврђен хемотаксономски значај диарилхептаноида. Осим тога, четири индивидуе (две са локалитета Римски мост и две са локалитета Саставци) показале су различит садржај диарилхептаноида у односу на групе јединки које су се формирале у оквиру врста. Претпоставља се да је група од четири индивидуе хибридогеног порекла.

Варијабилност концентрације диарилхептаноида испитана је у две географски блиске (Римски мост и Саставци) и две релативно удаљене популације црне и сиве јове са типичних станишта за сваку врсту: Прилички кисељак (*A. glutinosa*) и Голијска река (*A. incana*). Резултати указују на то да географска блискост популација Римски мост и Саставци повећава њихову хемијску сличност. Све популације су показале изражен унутарпопулациони варијабилитет, а најхетерогенија је популација Саставци, што указује на постојање хибридних јединки у овој популацији. Осим тога, од осталих група највише је издвојена Голијска река. Ова популација се налази на локалитету који се одликује знатно другачијим климатским карактеристикама од преостала три локалитета.

Сезонска варијабилност у кори узоркованој у јуну 2015. и априлу 2016. године испитана је у популацијама Римски мост (*A. glutinosa*) и Саставци (*A. incana*). Концентрација диарилхептаноида се значајно разликује у две сезоне, али прати одређени тренд: већина једињења је присутна у већој концентрацији у јуну у односу на април, што представља индикацију различитог пластичног одговора у различитим сезонама. Осим тога, тренд промене концентрације орегонина и хирсутанонола указује на то да је биосинтеза диарилхептаноида у јуну у популацији Саставци била додатно индукована неком врстом стресора или комбинованим утицајем више фактора.

Применом метода геометријске морфометрије испитана је варијабилност облика и величине листова. Резултати су показали континуум облика листова, од облика типичних за *A. glutinosa* до облика типичних за *A. incana*, уз постојање прелазних форми, што имплицира сродност ове две врсте, затим велику варијабилност и фенотипску пластичност индивидуа у оквиру популација, као и вероватноћу постојања хибрида. Дискриминантна анализа је издвојила 18 потенцијалних хибридних јединки, односно листова, у популацијама *A. incana* који обликом више подсећају на *A. glutinosa*. Број парова секундарних нерава (SN) код ових јединки је интермедијаран између *A. glutinosa* и *A. incana*. Величина листа била је значајно мања у популацији Саставци у односу на друге популације. Осим тога, ова популација је показала другачији образац алометрије, односно промене облика листа са променом величине, што може бити индикатор субоптималних услова. Резултати указују на то да су обрасци алометрије листа, величина листа и SN добри индикатори деловања срединских фактора.

3. Упоредна анализа резултата кандидаткиње са подацима из литературе

Испитивања варијабилности хемијских састојака биљака користе се за расветљавање биогеографије, таксономије, филогеније, еволуције и екологије биљних врста и популација. Осим тога, ова истраживања се примењују за утврђивање састава биолошки активних једињења лековитих биљних врста различитог географског порекла.

У последњих двадесет година диарилхептаноиди су постали једна од најатрактивнијих тема у области истраживања природних производа, захваљујући својим изразитим биолошким активностима. Ова једињења своју популарност дугују куркумину, првом откривеном диарилхептаноиду, за који је утврђен изузетно широк опсег биолошких активности. Највише представника ове групе природних производа је у фамилијама *Betulaceae* и *Zingiberaceae*, мада се јављају и у другим фамилијама. Поједини родови и фамилије показују специфичност у погледу структурног типа диарилхептаноида, што указује на велики потенцијал примене ових једињења у области хемотаксономских истраживања.

Род *Alnus* (јове) обухвата између 20 и 35 врста. До неусаглашености аутора око броја врста јова долази услед недостатка јасних морфолошких граница између појединих таксона. Варијације у морфологији листа, на пример, на интер- и интраспецијском нивоу често показују континуум, а детерминацију отежава и интерспецијска хибридизација, јер се, као последица, у популацијама јављају јединке које имају прелазне карактеристике између родитељских врста. Ово је случај и код блиско сродних врста *A. glutinosa* и *A. incana* које расту у симпатричким популацијама и између којих је забележена хибридизација. Резултати испитивања морфологије листа *A. glutinosa* и *A. incana* у овом раду у складу су са резултатима претходних студија добијених класичном и геометријском морфометријом. У дисертацији је урађена досад најдетаљнија геометријско-морфометријска анализа листова *A. glutinosa* и *A. incana*, чији резултати представљају релативно поуздан индикатор срединских фактора, као и присуства хибрида.

У научној литератури су веома заступљена испитивања варијабилности секундарних метаболита у циљу диференцијације морфолошки сличних врста, диференцијације инфраспецијских таксона, одређивања географског порекла биљака и утврђивања хибридног порекла неких врста. У овом раду је први пут испитана концентрација диарилхептаноида у екстракту коре *A. glutinosa* и *A. incana* са циљем диференцијације врста и детекције интерспецијских хибрида. Све више се истиче значај испитивања квантитативне варијабилности секундарних метаболита на интрапопулационом, међупопулационом и интерспецијском нивоу у циљу откривања еколошких односа у популацијама, али и предвиђања одговора биљних врста на климатске промене. Већа варијабилност секундарних метаболита, нарочито између географски блиских популација једне врсте између којих нема значајне генетичке дивергенције, као и унутар популација, требало би да указује на бољу и бржу адаптацију на новонастале услове.

4. Објављени радови који чине део докторске дисертације

Радови објављени у међународном часопису изузетних вредности категорије M21a:

1. **Vidaković, V.**, Novaković, M., Popović, Z., Janković, M., Matić, R., Tešević, V., Bojović, S. (2018): Significance of diarylheptanoids for chemotaxonomical distinguishing between *Alnus glutinosa* and *Alnus incana*. *Holzforschung* 72(1):9-16.

<https://www.degruyter.com/view/j/hfsg.2018.72.issue-1/hf-2017-0074/hf-2017-0074.xml?format=INT>

2. **Vidaković, V.**, Stefanović, M., Novaković, M., Jadranin, M., Popović, Z., Matić, R., Tešević, V., Bojović, S. (2018): Inter- and intraspecific variability of selected diarylheptanoid compounds and leaf morphometric traits in *Alnus glutinosa* and *Alnus incana*. *Holzforschung*, doi: 10.1515/hf-2018-0019. Прихваћен за штампу, објављен на интернет страници часописа.

<https://www.degruyter.com/view/j/hfsg.ahead-of-print/hf-2018-0019/hf-2018-0019.xml?format=INT>

5. Закључак

Комисија је након детаљног прегледа докторске дисертације кандидаткиње Вере Видаковић, дипломираног биохемичара, под насловом „Садржај диарилхептаноида у кори црне (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) и сиве јове (*Alnus incana* (L.) Moench) као индикатор таксономске и популационе варијабилности“ закључила да је ова дисертација резултат њеног самосталног рада. Кандидаткиња је током израде дисертације показала велику упорност и посвећеност, овладала техникама експерименталног рада и успешно одговорила на постављене задатке који су се односили на развој аналитичког поступка за испитивање хемијске варијабилности коре и морфолошке варијабилности листова у четири популације *A. glutinosa* и *A. incana*. Применом модерних аналитичких и хеометријских метода утврђена је сезонска, унутарпопулациона, међупопулациона и интерспецијска варијабилност диарилхептаноида у кори, утврђен је хемотаксономски значај диарилхептаноида и детектоване су потенцијалне хибридне јединке у популацијама Саставци (*A. incana*) и Римски мост (*A. glutinosa*). Применом геометријске морфометрије

одређена је унутарпопулациона, међупопулациона и интерспецијска варијабилност облика листова и детектоване су потенцијалне хибридне јединке у популацијама врсте *A. incana*, Саставци и Голијска река.

Резултати ове докторске дисертације представљају значајан научни допринос сагледавању популационе варијабилности и диверзитета *Alnus* spp. на подручју изузетног природног и културног наслеђа, Резервата биосфере „Голија-Студеница“ (УНЕСКО-МАБ). На основу података проистеклих из тезе отвара се могућност даљих истраживања у овој области – испитивања варијабилности популација на другим, удаљенијим подручјима, испитивања значаја диарилхептаноида у хемотаксономији других врста јова и других родова фамилије Betulaceae, као и могућност повезивања са другим областима, у првом реду са генетичким истраживањима.

Резултате из докторске дисертације кандидаткиња је објавила у два научна рада, од којих је један штампан, а други прихваћен за штампање у међународном часопису изузетних вредности категорије M21a. На оба рада кандидаткиња је први аутор.

Комисија сматра да је Вера Видаковић испунила све услове за одбрану докторске дисертације под насловом „Садржај диарилхептаноида у кори црне (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) и сиве јове (*Alnus incana* (L.) Moench) као индикатор таксономске и популационе варијабилности“. Стога, предлажемо Наставно-научном већу Хемијског факултета Универзитета у Београду да **Вери Б. Видаковић**, дипломираном биохемичару, одобри јавну одбрану докторске дисертације под наведеним насловом, чиме ће се испунити услови да кандидаткињи припадне научни степен и звање доктор биохемијских наука.

У Београду, 06.08.2018.

Чланови комисије

Др Срђан Бојовић, научни саветник Института
за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду; **ментор**

Др Веле Тешевић, ванредни професор
Хемијског факултета Универзитета у Београду; **ментор**

Др Зорица Поповић, виши научни сарадник
Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду

Др Мирослав Новаковић, научни сарадник Центра
за хемију Института за хемију, технологију и металургију Универзитета у Београду

Др Љубодраг Вујисић, доцент
Хемијског факултета Универзитета у Београду

Др Петар Д. Марин, редовни професор
Биолошког факултета Универзитета у Београду