

Биолошки факултет
Број захтева:15/238-1
Датум: 17.05.2013.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на предлог теме докторске дисертације

Молимо да, сходно члану 46. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду («Гласник Универзитета», број 131/06), дате сагласност на предлог теме докторске дисертације:

„Регулација продукције лабданских дитерпена у култури *in vitro* *Cistus creticus* L. subsp. *creticus* (L.) Greuter & Burdet и анализа њихове биолошке активности“.

НАУЧНА ОБЛАСТ: Биолошке науке.

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног родитеља и презиме кандидата:

Мр Маријана В. Скорић

2. Назив и седиште факултета на коме је стекао високо образовање:

Универзитет у Београду- Биолошки факултет.

3. Година дипломирања: 2000.

4. Назив магистарске тезе кандидата: „Клијање семена *Arabidopsis thaliana* индуковано активацијом фитохрома А и фитохрома Б“.

5. Назив факултета на коме је магистарска теза одбрањена:

Универзитет у Београду-Биолошки факултет.

6. Година одбране магистарске тезе: 2005.

7. Година и назив факултета на коме је кандидат уписао докторске студије: /

Обавештамо Вас да је Наставно-научно веће Универзитета у Београду-Биолошког факултета, на VII редовној седници одржаној 17.05.2013. год. размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

Прилог:

1. Предлог теме докторске дисертације са образложењем.

2. Акт надлежног тела факултета о подобности теме за израду докторске дисертације.

3. Подаци о ментору.



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

15/238-17.05.2013.

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 59. став 1. тачка 12. Статута Биолошког факултета Универзитета у Београду, Наставно-научно веће Факултета, на VII редовној седници одржаној 17.05.2013. године, донело је

О Д Л У К У

Прихвата се Извештај Комисије за оцену испуњености услова и научне заснованости теме докторске дисертације кандидата:

Мр Маријане В. Скорић, дипломираног молекуларног биолога и физиолога, под насловом:

„Регулација продукције лабданских дитерпена у култури *in vitro* *Cistus creticus* L. subsp. *creticus* (L.) Greuter & Burdet и анализа њихове биолошке активности“.

За менторе се именују:

1. Др Анета Сабовљевић, доцент, Универзитет у Београду-Биолошки факултет;
2. Др Слађана Тодоровић, научни сарадник, Универзитет у Београду-Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

Доставити:

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

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

за кандидата: **Мр Маријану Скорић**

А: Име и презиме ментора: **др Слађана Тодоровић**

Звање: **научни сарадник Универзитет у Београду-Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Majdi, M., Liu, Q., Karimzadeh, G., Malboobi, M.A., Beekwilder, J., Cankar, K., De Vos, R., **Todorović, S.**, Simonović, A., Bouwmeester, H. (2012) Biosynthesis and localization of parthenolide in glandular trichomes of feverfew (*Tanacetum parthenium* L. Schulz Bip.). *Phytochemistry*, 72: 1739-1750 (M21)
2. Skorić, M., **Todorović, S.**, Gligorijević, N., Janković, R., Živković, S., Ristić, M., Radulović, S. (2012) Cytotoxic activity of ethanol extracts of in vitro grown *Cistus creticus* subsp. *creticus* L. on human cancer cell lines. *Industrial Crops and Products*, 38: 153-159 (M21)
3. Perić, M., Dmitrović, S., Živković, S., Filipović, B., Skorić, M., Simonović, A., **Todorović, S.** (2012) In vitro growth, morphogenesis and acclimatisation of endangered *Rindera umbellata* (Waldst & Kit.) Bunge. *HortScience*, 47 (8): 1123-1128 (M22)
4. **Todorović, S.**, Giba, Z., Bačić, G., Nikolić, M., Grubišić, D. (2008) High seed Mn content does not affect germination of in vitro produced *Centaureum pulchellum* seed. *Environmental and Experimental Botany*, 64: 322-324 (M21)
5. **Todorović, S.**, Grubišić, D., Giba, Z., Mišić, D., Konjević, R. (2006) Sucrose effects on in vitro fruiting and seed production of *Centaureum pulchellum*. *Biologia Plantarum*, 50(4): 771-774 (M22)

Б: Име и презиме ментора: **др Анета Сабољевић**

Звање: **доцент, Универзитет у Београду-Биолошки факултет.**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Vujičić, M., **Sabovljević, A.**, Šinžar-Sekulić, J., Skorić, M., Sabovljević, M. (2012) *In vitro* development of the rare and endangered moss *Molendia hornschiiana* (Hook.) Lindb. ex Limpr. (Pottiaceae, Bryophyta). *HortScience* 47(1): 84-87.
2. Shahriari, M., Richter, K., Keshavaiah, C., **Sabovljevic, A.**, Huelskamp, M., Schellmann, S. (2011): The *Arabidopsis* ESCRT protein - protein interaction network. *Plant Molecular Biology* 76: 85-96.

3. Rowntree, J.K., Pressel, S., Ramsay, M.M., **Sabovljević, A.**, Sabovljević, M. (2011): *In vitro* conservation of European bryophytes. In *Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant* 47: 55 – 64.
4. Arya, A.K., Martin, K.P., **Sabovljević, A.**, Madassery, J. (2011) Transformation through agroinfection on decapitated shoot apex of field-growing *Phyllanthus amarus*. *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 2011-2017.
5. Shahriari, M., Keshavaiah, C., Scheuring, D., **Sabovljevic, A.**, Pimpl, P., Hausler, R.E., Huelskamp, M., Schellmann, S. (2010): The AAA-type ATPase AtSKD1 contributes to vacuolar maintenance of *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 64: 71-85.

Заокружити одговарајућу опцију (А, Б, В, или Г):

А) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техничко-технолошких, природно-математичких и медицинских наука ментор треба да има најмање три рада са SCI, SSCI, AHCI или SCIE листе.

Б) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији друштвено-хуманистичких наука ментор треба да има најмање три рада са релеватне листе научних часописа (Релевантна листа научних часописа обухвата SCI, SSCI, AHCI или SCIE листе, листу часописа које је Министарство за науку класификовало као M24 и додатну листу часописа, коју ће на предлог Универзитета донети Национални савет за високо образовање. Посебно се вреднује и монографије које Министарство науке класификује као M11, M12, M13, M14, M41, M51.)

В) У случају израде докторске дисертације према ранијим прописима за кандидате који су стекли академски магистра наука ментор треба да има пет радова (референци) које га, по оцени Већа научних области, квалификују за ментора односно дисертације.

Г) У случају да у ужуј научној области нема квалификованих наставника, приложити одлуку Већа докторских студија о именовању редовног професора за ментора.

Декан Биолошког факултета

Датум: 17.05.2015.

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

**NASTAVNO – NAUČNOM VEĆU
BIOLOŠKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na V redovnoj sednici Naučno–nastavnog veća Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu održanoj 08.02.2013. godine, određeni smo u Komisiju za ocenu ispunjenosti uslova i naučne zasnovanosti predložene teme za izradu doktorske disertacije mr Marijane Skorić, pod naslovom: “Regulacija produkcije labdanskih diterpena u kulturi *in vitro* *Cistus creticus* L. subsp. *creticus* (L.) Greuter & Burdet i analiza njihove biološke aktivnosti“.

Na osnovu podnete dokumentacije i uvida u dosadašnji rad mr Marijane Skorić, Komisija podnosi Nastavno-naučnom veću Biološkog fakulteta sledeći:

I Z V E Š T A J

A. Opšti podaci o kandidatu:

Ime, srednje slovo i prezime: Marijana, V. Skorić (rođ. Dević)

Datum i mesto rođenja: 10.04.1974. Beograd

Zaposlen (radna organizacija): Institut za biološka istraživanja “Siniša Stanković”

Kontakt telefoni: 011/3971877; 060/4479959

E-mail: mdevic@ibiss.bg.ac.rs

Obrazovanje:

2005	Magistar bioloških nauka, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu
2001-2005	Poslediplomske studije, smer Fiziologija biljaka, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu
2000	Diplomirani molekularni biolog i fiziolog, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Stručno usavršavanje:

Projekti:

Nacionalni projekti

2011-	Fiziološka, hemijska i molekularna analiza diverziteta odabranih
-------	--

- retkih i ugroženih biljnih vrsta i upotreba biotehnologije u cilju *ex situ* zaštite i produkcije biološki aktivnih jedinjenja
- 2006 – 2010 Svetlosna i hormonalna kontrola rastenja i razvića biljaka, razmnožavanje *in vitro* i *ex situ* zaštita retkih i ugroženih vrsta (BI 143031)
- 2002 – 2004 Mikropropagacija, reintrodukcija i plantažno gajenje ugrožene, endemične i potencijalno lekovite biljne vrste *Nepeta rtanjensis*
- 2000 – 2005 Svetlosna i hormonalna regulacija rastenja i razvića biljaka (BI 1696)
- Međunarodni projekti
- 2009 – 2013 Plant Terpenoids for Human Health: a chemical and genomic approach to identify and produce bioactive compounds (Grant Agreement No. 227448)
- 2012 – 2013 Depozicija atmosferskih polutanata u mahovinama: teški metali, azot i PAH (651-03-1251/2012-09/33) Bilateralni projekat Republika Srbija – Slovenija

Članstvo u naučnim društvima:

Srpsko biološko društvo,
Društvo za fiziologiju biljaka Srbije

Strani jezici:

engleski

Naučna oblast: Prirodno-matematičke nauke - Biologija

Uža naučna oblast: Fiziologija biljaka

Posebne aktivnosti i priznanja:

2005. Nagrada za predavanje mladih istraživača na XVI Simpozijumu Društva biljnih fiziologa Srbije i Crne Gore (Dević, M., Živković, S., Giba, Z., Grubišić, D., Konjević, R. (2005): Action of potassium cyanide and sodium azide in *Arabidopsis thaliana* seed germination. XVI Symposium, Society of Plant Physiology SCG, Bajina Bašta, Book of abstracts, 42)
- 01.03. do 31.03. 2007. godine – jednomesečni boravak u Laboratoriji za farmakognoziiju (Laboratory of Pharmacognosy, Aristotel Group of Biotechnology of

Pharmaceutical Plants, Dept. of Pharmaceutical Sciences) u okviru saradnje između Arstotelovog Univerziteta u Solunu, Grčka (Aristotle University of Thessaloniki, Greece) i Univerziteta u Beogradu, Srbija.

B. Bibliografija:

1. Publikovani naučni i stručni radovi iz uže naučne oblasti:

Radovi u časopisima međunarodnog značaja

1. Batak, I., **Dević, M.**, Giba, Z., Grubišić, D., Poff, K. L., Konjević, R. (2002): The effects of potassium nitrate and NOdonors on phytochrome A and phytochrome Bspecific induced germination of *Arabidopsis thaliana* seeds. Seed Science Research, 12, 253-259
M21
2. **Dević, M.**, Momčilović, I., Krstić, D., Maksimović, V., Konjević, R. (2006): *In vitro* multiplication of willow gentian (*Gentiana asclepiadea* L.) and the production of gentiopicrine and mangiferin. Phyton, 46 (1): 45-54
M23
3. **Skorić, M.**, Todorović, S., Gligorijević, N., Janković, R., Živković, S., Ristić, M., Radulović, S. (2012): Cytotoxic activity of ethanol extracts of *in vitro* grown *Cistus creticus* subsp. *creticus* L. on human cancer cell lines. Industrial Crops and Products, 38: 153-159.
M21
4. Sabovljević, M., Vujičić, M., Šinžar-Sekulić, J., Segarra-Moragues, J. G., Papp, B., **Skorić, M.**, Dragačević, L., Sabovljević, A. (2012): Reviving, In Vitro Differentiation, Development, and Micropropagation of the Rare and Endangered Moss *Bruchia vogesiaca* (Bruchiaceae). Hortscience, 47(9): 1347-1350.
M22
5. Vujičić, M., Sabovljević, A., Šinžar-Sekulić, J., **Skorić, M.**, Sabovljević, M. (2012): In Vitro Development of the Rare and Endangered Moss *Molendoa hornschurchiana* (Hook.) Lindb. ex Limpr. (Pottiaceae, Bryophyta). Hortscience, 47(1): 84-87.
M22
6. Perić, M., Dmitrović, S., Živković, S., Filipović, B., **Skorić, M.**, Simonović, A., Todorović, S. (2012): *In vitro* growth, morphogenesis and acclimatization of endangered *Rindera umbellata* (Waldst. & Kit.) Bunge. Hortscience, 47(8): 1123-1128.
M22
7. **Skorić, M.**, Šiler, B., Banjanac, T., Nestorović Živković, J., Dmitrović, S., Mišić, D., Grubišić, D. (2012): The reproducibility of RAPD profiles: Effects of PCR components on RAPD analysis of four Centaurium species, Archives of Biological Sciences, 64 (1): 191-199.
M23
8. **Skorić, M.**, Živković, S., Savić, J., Šiler, B., Sabovljević, A., Todorović, S., Grubišić, D. (2012): Efficient one-step tissue culture protocol for propagation of endemic plant, *Lilium martagon* var. *cattaniae* Vis. African Journal of Biotechnology, 11 (8): 1862-1867.
M23
9. Sabovljević, A., Vujičić, M., **Skorić, M.**, Bajić-Ljubičić, J., Sabovljević, M. (2012): Axenically Culturing the Bryophytes: Establishment and Propagation of the

Pleurocarpous Moss *Thamnobryum Alopecurum* Nieuwland Ex Gangulee (Bryophyta, Neckeraceae) in *In Vitro* Conditions. Pakistan Journal of Botany, 44 (1): 339-344.

M23

Radovi u časopisima domaćeg značaja

1. Živković, S., **Dević, M.**, Filipović, B., Giba, Z., Grubišić, D. (2007): Effect of NaCl on seed germination in some *Centaureum* Hill. Species (Gerntianaceae). Arch. Biol. Sci., 59 (3), 227-231 **M51**

Kongresna saopštenja na skupovima međunarodnog značaja

1. Savić, J., **Dević, M.**, Giba, Z., Grubišić, D. (2006): *In vitro* propagation of endangered relic plant species *Malosorbus florentina*. International scientific Conference „Sustainable Use of Forest Ecosystems - The Challenge of the 21st century“, Donji Milanovac, Srbija, Proceedings, 529 **M33**
2. Banjanac, T., Krstić, D., **Dević, M.**, Vinterhalter, B., Grubišić, D. (2009): *In vitro* propagation and xantone content of *Gentiana praecox* (A. Et. J. Kern) Dostal. Proceedings of the 2nd International Symposium“New Researches in Biotechnology“, Bucharest, Romania, 303-308 **M33**
3. Živković, S., **Dević, M.**, Radičević, N., Todorović, S., Grubišić, D. (2002): Seed germination of some species from genus *Centaureum*. Second Conference on Medicinal and Aromatic plants of Southeast European Countries, Chalkidiki, Greece, *Book of abstracts*, 167 **M34**
4. Todorović, S., **Dević, M.**, Živković, S., Grubišić, D., Giba, Z. (2002): *In vitro* seed production of *Centaureum pulchellum* (Sw.) Druce. Second Conference on Medicinal and Aromatic plants of Southeast European Countries, Chalkidiki, Greece, *Book of abstracts*, 166 **M34**
5. **Dević, M.**, Krstić, D., Momčilović, I., Konjević, R., Grubišić, D. (2004): Quantitative determination of mangiferin in *in vitro* propagated plants of *Gentiana asclepiadea* L. by High Performance Liquid Chromatography. 3rd Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, Nitra, Slovak Republic, *Book of abstracts*:52 **M34**
6. Grubišić, D., Živković, S., **Dević, M.**, Todorović, S. (2006): The germination of seeds of some *Centaureum* species. II International Symposium of Ecologist of the republic of Montenegro, Kotor, Republic of Montenegro, *Book of abstracts*, 84 **M34**
7. Čulafić, Lj., Grubišić, D., Mišić, D., **Dević, M.**, Živković, S., Savić, J. (2006): *In vitro* culture-a method for vegetative propagation of endemic and rare plants, and its application in *ex situ* conservation. II International Symposium of Ecologist of the republic of Montenegro, Kotor, Republic of Montenegro, *Book of abstracts*, 85 **M34**
8. **Dević, M.**, Živković, S., Momčilović, I., Kanellis, A.K., Grubišić, D. (2009): Accumulation of dehydrins during dehydration/rehydration cycle in *Cistus creticus* subsp. *creticus* L. 5th Balkan Botanical Congress, Belgrade, *Book of abstracts*, 119 **M34**

9. Živković, S., **Dević, M.**, Momčilović, I., Grubišić, D. (2009): Effects of dehydration on polyphenol oxidase activity and isoform expression in rustyback fern (*Ceterach officinarum* D.C.). 5th Balkan Botanical Congress, Belgrade, *Book of abstracts*, 88
M34

Kongresna saopštenja na skupovima domaćeg značaja

1. Giba, Z., **Dević, M.**, Grubišić, D., Konjević, R. (2003): The effect of some nitrogenous compounds on phytochrome A- and phytochrome B- specific induced germination of *Arabidopsis thaliana* (var. Landsberg *erecta*) seeds. XV Symposium of Yugoslav Society of Plant Physiology, Vrdnik, *Book of abstracts*, 85
M62
2. **Dević, M.**, Živković, S., Giba, Z., Grubišić, D., Konjević, R. (2005): Action of potassium cyanide and sodium azide in *Arabidopsis thaliana* seed germination. XVI Symposium, Society of Plant Physiology SCG, Bajina Bašta, *Book of abstracts*, 42
M62
3. Mišić, D., **Dević, M.**, Todorović, S., Živković, S., Aleksić, P., Ghalwenji, N., Grubišić, D., Giba, Z., Konjević, R., Kovačević, N. (2003): Micropropagation of *Nepeta rtanjensis* Diklić & Milojević: an efficient approach for *ex situ* conservation. XV Symposium of Yugoslav Society of Plant Physiology, Vrdnik, *Book of abstracts*, 64
M64
4. **Dević, M.**, Živković, S., Giba, Z., Grubišić, D., Konjević, R. (2003): The effect of potassium cyanide and sodium azide on light-induced *Arabidopsis thaliana* seed germination. XV Symposium of Yugoslav Society of Plant Physiology, Vrdnik, *Book of abstracts*, 93
M64
5. **Dević, M.**, Živković, S., Grubišić, D., Konjević, R. (2005): Uspostavljanje *in vitro* kulture zlatana (*Lilium martagon* L.). 8th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighboring Regions, Niš, *Book of abstracts*, 97
M64
6. Savić, J., **Dević, M.**, Krivošej, Z., Čulafić, LJ. (2005): Induction of *in vitro* culture of *Fibigia clypeata* (L.) R. Br. VIII Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighboring Regions, Niš, Serbia, *Book of abstracts*, 96
M64
7. **Dević, M.**, Maksimović, V., Momčilović, I., Konjević, R., Grubišić, D., (2005): HPLC analysis of gentiopicroside content in *in vitro* propagated *Gentiana asclepiadeae* L. plants. XVI Symposium, Society of Plant Physiology SCG, Bajina Bašta, *Book of abstracts*, 38
M64
8. Konjević, R., **Dević, M.**, Giba, Z., Grubišić, D., (2005): The effects of cytokinins in light-induced *Arabidopsis thaliana* seed germination. XVI Symposium, Society of Plant Physiology SCG, Bajina Bašta, *Book of abstracts*, 43
M64
9. Jovanović, V., Janjić, V., Nikolić, B., **Dević, M.**, Grubišić, D., (2005): Effects of green and far-red light on common chickweed (*Stellaria media* (L.) seed germination. XVI Symposium, Society of Plant Physiology SCG, Bajina Bašta, *Book of abstracts*, 44
M64

10. Šiler, B., **Dević, M.**, Mišić, D., Grubišić, D. (2007): Optimization of RAPD protocols for use in genetic studies of genus *Centaurium*. XVII Symposium, Society of Plant Physiology SCG, Banja Junaković, Book of abstracts, 71 **M64**
11. **Dević, M.**, Živković, S., Todorović, S., Grubišić, D., Kanellis, A.K. (2007): Transformation and *in vitro* propagation of *Cistus creticus* ssp. *creticus* (L.) XVII Symposium, Society of Plant Physiology SCG, Banja Junaković, Book of abstracts, 73 **M64**
12. **Dević, M.**, Maksimović, V., Giba, Z., Grubišić, D., Kanellis, A.K. (2007): HPLC analysis of some phenolic compounds in transformed roots of *Cistus creticus* ssp. *creticus* (L.) XVII Symposium, Society of Plant Physiology SCG, Banja Junaković, Book of abstracts, 74 **M64**
13. Živković, S., **Dević, M.**, Maksimović, V., Grubišić, D. (2007): Phenolic components of selected ferns: differences between gametophyte and sporophyte. XVII Symposium, Society of Plant Physiology SCG, Banja Junaković, Book of abstracts, 110 **M64**
14. Živković, S., Popović, M., **Dević, M.**, Ghalawenji, N., Momčilović, I., Grubišić, D. (2009): Effects of dehydration on phenol content and polyphenol oxidase activity in golden fern (*Ceterach officinarum* D.C.). XVIII Symposium, Serbian Society of Plant Physiology, Vršac. Book of abstracts, 109 **M64**
15. Nestorović, J., Mišić, D., **Dević, M.**, Stojić, A., Tasić, M., Malović, G., Grubišić, D. (2009): PTR-MS and HPLC analysis of nepetalactone in shoots cultures of *Nepeta rtanjensis* Diklić & Milojević. XVIII Symposium, Serbian Society of Plant Physiology, Vršac. Book of abstracts, 41 **M64**
16. Božić, D., Mišić, D., **Dević, M.**, Šiler, B., Ghalawenji, N., Grubišić, D. (2009): The effects of cytokinins on the morphogenesis and the secoiridoid glycosides content in *Gentiana pneumonanthe* L. hairy root cultures. XVIII Symposium, Serbian Society of Plant Physiology, Vršac. Book of abstracts, 49 **M64**
17. Živković, S., **Dević, M.**, Popović, M., Momčilović, I., Grubišić, D. (2009): Characterisation and expression analysis of superoxide dismutase in resurrection fern *Ceterach officinarum* D.C. Scientific symposium "Mitochondria and free radicals"-the new challenge, Serbian society for mitochondrial and free-radical physiology, Beograd, Book of abstracts, 88 **M64**
18. **Skorić, M.**, Todorović, S., Ristić, M., Kanellis, A.K., Grubišić, D. (2011): Influence of carbohydrate source on *in vitro* growth and development of *Cistus creticus* subsp. *creticus* L. 19th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society, Book of Abstracts, 36 **M64**
19. Šiler, B., Banjanac, T., Nestorović, Živković, J., Cvetković, J., Avramov, S., Patenković, A., **Skorić, M.**, Mišić, D. (2012). Genetic diversity of *Centaurium erythraea* on the Balkan Peninsula based on RAPD data. The Second Symposium of Population and Evolutionary Genetics, Belgrade, Serbia, Book of Abstracts, 43 **M64**

2. Magistarska teza:

Dević, M. (2005) Klijanje semena *Arabidopsis thaliana* indukovano aktivacijom fitohroma A i fitohroma B. Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

C. Tema doktorske disertacije:

Naslov disertacije:

„Regulacija produkcije labdanskih diterpena u kulturi *in vitro* *Cistus creticus* L. subsp. *creticus* (L.) Greuter & Burdet i analiza njihove biološke aktivnosti“.

Područje istraživanja: Fiziologija biljaka

Polazne osnove:

Cistus creticus subsp. *creticus* (fam. *Cistaceae*) je višegodišnja, žbunasta, biljka koja nastanjuje uglavnom suva i topla područja Mediterana. Abaksijalna i adaksijalna strana listova, kao i stablo su pokriveni neglandularnim (stelatnim) i glandularnim trihomama (žlezdanim dlakama) (Gulz et al., 1996; Falara et al., 2008). Glandularne trihome luče rezin “Ladano” koji lokalno stanovništvo Krita od davnina koristi u lečenju mnogih bolesti (Hegnauer, 1964). Predominantna komponenta rezina i etarskih ulja ove biljke su labdanski diterpeni (Demetzos et al., 1994, 1999, 2002; Anastasaki et al., 1999), dok ostali terpeni (mono i seskvi-terpeni) i fenolna jedinjenja doprinose hemijskom profilu biljke. Koren biljke je još uvek nepoznatog hemijskog sastava, mada se zna da u njemu nisu eksprimirani geni koji učestvuju u biosintezi labdanskih diterpena u listovima i u stablima ove biljke (Falara et al., 2008).

Labdanski diterpeni spadaju u sekundarne metabolite biljaka u tzv. grupu izoprenoida. Biosinteza izoprenoida (terpenoida) se odvija preko dva jasno lokalizovana puta, jednog u citoplazmi (mevalonatski put – MVA, eng. mevalonic-acid) i drugog u plastidima (metileritrol 4-fosfatni put – MEP, eng. methylerythritol 4-phosphate pathway) (Rodriguez-Concepcion and Boronat, 2002). MEP put obezbeđuje prekursore za biosintezu uglavnom mono i diterpena, karotenoida, giberelina i abscisinske kiseline, dok MVA put obezbeđuje prekursore za biosintezu seskviterpena, sterola, brasinosteroida itd. (Rodriguez-Concepcion and Boronat, 2002). MEP put još uvek nije dovoljno razjašnjen, pogotovo put produkcije labdanskih diterpena. Tek nedavno je načinjen pomak uspešnim sekvencioniranjem nekoliko gena koji učestvuju u ovom biosintetskom putu kod *C. creticus* (Falara et al. 2008, 2010), čime je omogućeno proučavanje regulacije MEP puta na transkripcionom nivou.

Kao i kod većine sekundarnih metabolita, do varijacija u sadržaju labdanskih diterpena mogu dovesti različiti uslovi sredine kao što su svetlost, temperatura, dostupnost vode itd. (Demetzos, et al., 2002). Abiotički stres, poput suše, povećane temperature, povrede i povećanog osmotskog potencijala dovodi do serije morfoloških, fizioloških, biohemijskih i molekularnih promena koje utiču kako na rastenje i razviće biljaka, tako i na produkciju sekundarnih metabolita. Izoprenoidi, pored toga što imaju funkciju pigmenata, fitohormona, konstituenata membrane, itd. imaju i značajnu ulogu u odgovorima biljaka na stres (Macedo, A. F., 2012) i predstavljaju deo biljnog odbrambenog mehanizma. Naime, biosinteza izoprenoida je indukovana abiotskim stresom zahvaljujući povećanoj transkripciji ili povećanoj enzimskoj aktivnosti gena i/ili enzima koji učestvuju u biosintetskom putu ovih metabolita (McKay et al., 2006; Pateraki and Kanellis, 2010). Iako je pokazano da određeni faktori sredine mogu da utiču na ekspresiju nekih gena u okviru MEP i MVA puta kod biljaka *C. creticus* iz prirode (Pateraki and Kanellis, 2010), do sada nema podataka o uticaju abiotskog stresa na kvantitativan i kvalitativan sadržaj sekundarnih metabolita, prvenstveno labdanskih diterpena.

Labdanski diterpeni poseduju veliki farmaceutski potencijal zahvaljujući svojim antikancerogenim, antiinflamatornim i antimikrobnim svojstvima. U farmaceutskoj industriji za pribavljanje dovoljne količine sekundarnih metabolita kao što su labdanski diterpeni, postoji nekoliko limitirajućih faktora kao što su: ograničena dostupnost biljnog materijala, niska koncentracija jedinjenja u njemu, sezonske varijacije u njihovom sadržaju, kao i otežano dobijanja potpuno prečišćenih molekula. Hemijska sinteza ovih jedinjenja je neisplativa s obzirom na njihov broj i njihovu kompleksnu strukturu. Stoga, mikropropagacija u kontrolisanim uslovima predstavlja dobar metod za proizvodnju labdanskih diterpena u velikim količinama i konzistentnijeg kvaliteta. Za ostvarivanje visokih prinosa ovih jedinjenja neophodno je optimizovati sastav hranljivih podloga i proučiti faktore koji mogu dovesti do njihove povećane produkcije. U kulturi *in vitro* omogućeno je i dobijanje biljaka sa željenim osobinama primenom genetičkog inženjeringa kao biotehnoške metode. Jedna od važnih osobina biljaka koja se može poboljšati tehnikom genetičkih transformacija je proizvodnja sekundarnih metabolita (Vanisree et al., 2004).

Predmet istraživanja:

Predmet istraživanja ove disertacije biće regulacija produkcije labdanskih diterpena u biljkama *Cistus creticus* subsp. *creticus* gajenim u *in vitro* uslovima, pod uticajem različitih abiotskih faktora i na hranljivim podlogama sa varirajućim sadržajem različitih šećera.

Takođe, analiziraće se biološka aktivnost ekstrakata izdanaka i korena biljaka iz *in vitro* kulture na određenim sojevima bakterija i gljiva, na do sada neispitanim humanim tumorskim ćelijskim linijama, kao i njihovo potencijalno antioksidativno dejstvo.

Cilj i zadaci istraživanja:

- Uspostavljanje *in vitro* kulture izdanaka *C. creticus* subsp. *creticus* i analiza nekoliko različitih klonova u cilju utvrđivanja postojanja razlika u parametrima rastenja i razvića, kao i u produkciji sekundarnih metabolita.
- Histohemijska analiza žlezdanih dlaka u cilju određivanja produkcije i akumulacije različitih jedinjenja u njima.
- Određivanje kvalitativnog i kvantitativnog sadržaja labdanskih diterpena i fenola u biljakama iz *in vitro* kulture.
- Analiza efekata određenih abiotskih faktora, kao i ugljenih hidrata iz podloge na produkciju labdanskih diterpena.
- Ispitivanje ekspresije odabranih ključnih gena uključenih u sintezu labdanskih diterpena u svim eksperimentalnim uslovima i biljnim organima.
- Transformacija *C. creticus* subsp. *creticus*, potvrda transformacije, kao i analiza hemijskog sastava transformanata i ekspresije gena uključenih u biosintezu labdanskih diterpena
- Utvrđivanje biološke aktivnosti (citotoksična, antimikrobna i antioksidativna) biljnih ekstrakata.

Hipoteze istraživanja:

U kontrolisanim *in vitro* uslovima može se pratiti produkcija farmaceutski važnih sekundarnih metabolita, koja je u nekim slučajevima i veća nego u biljkama koje rastu u prirodi (Petersen and Simmonds, 2003), a omogućena su i istraživanja u cilju uspostavljanja optimalnih uslova za produkciju sekundarnih metabolita i pronalaženja molekularnih mehanizama koji kontrolišu njihovu biosintezu (Gertlowski and Petersen, 1993; Solfanelli et al., 2006; Xiao et al., i sar., 2009).

Biosinteza izopreonoida je indukovana abiotičkim stresom zahvaljujući povećanoj transkripciji ili povećanoj enzimskoj aktivnosti gena i/ili enzima koji učestvuju u biosintetskom putu ovih metabolita (McKay et al., 2006; Pateraki and Kanellis, 2010).

Određeni faktori abiotskog stresa mogu da utiču na ekspresiju nekih gena u okviru MEP i MVA puta kod biljaka *C. creticus* iz prirode (Pateraki and Kanellis, 2010)

Ugljeni hidrati igraju važnu ulogu u životu biljaka ne samo kao izvori energije, već i kao regulatori rastenja. Saharoza i glukoza imaju ključnu ulogu u kontroli ekspresije gena povezanih sa metabolizmom, otpornošću na stres, rastom i razvićem biljaka (Mohamed and Alsadon, 2010; Rolland et al., 2006; Smeekens, 2000; Lux-Endrich et al, 2000). Gartlowski i Peterson (1993) su pokazali da povećanje koncentracije saharoze u hranljivim podlogama dovodi do povećane akumulacije sekundarnih metabolita.

U kulturi *in vitro* omogućeno je i dobijanje biljaka sa željenim osobinama primenom genetičkog inženjeringa kao biotehnološke metode. Osetljivost većine biljnih vrsta na infekciju sa *Agrobacterium* uticala je na masovnu upotrebu ove bakterije za genetičke transformacije različitih biljnih vrsta. Jedna od važnih osobina biljaka koja se može poboljšati tehnikom genetičkih transformacija je proizvodnja sekundarnih metabolita (Vanisree et al., 2004).

Metode istraživanja:

- U eksperimentalnom radu, kao polazni biljni materijal, koristiće se semena *Cistus creticus* subsp. *creticus* dobijena od prof. dr Angelos K. Kanellis (Dept. of Pharmaceutical Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Greece). Za uspostavljanje aseptičnih kultura izdanaka i dobijanja biljnog materijala za dalje analize i eksperimente, koristiće se *in vitro* tehnike.
- Za analizu tipa i ultrastrukture žlezdanih dlaka (trihoma) smeštenih na listovima, koristiće se skening elektronska mikroskopija (SEM).
- Histohemijskom analizom trihoma odrediće se produkcija i akumulacija sekundarnih metabolita u različitim tipovima žlezdanih dlaka.
- Kvalitativni i relativni kvantitativni sadržaj labdanskih diterpena (ali i ostalih mono i seskviterpena) u etanolskim ekstraktima izdanaka i korena biljaka, biće određen GC-FID i GC-MS analizom.
- Za kvantitativno i kvalitativno određivanje sadržaja fenolnih jedinjenja u ekstraktima izdanaka i korena *C. sreticus* subsp. *creticus* koristiće se metoda tačne hromatografije sa masenim detektorom (HPLC-MS).
- Headspace GC-MS analizom identifikovaće se isparljiva jedinjenja prisutna u atmosferi posuda za gajenje, dok će se koncentracija dominantnih jedinjenja odrediti pomoću PTR-MS analize (Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry).

- U cilju dobijanja transgenih biljaka korišće se standardne metode molekularne biologije i bioinženjeringa. Genetička transformacija biće urađena sa *A. rhizogenes* (soj A4M70GUS). Potencijalna transformacija potvrdiće se GUS metodom i PCR analizom.
- qPCR analizom izvršiće se određivanje nivoa ekspresije odabranih gena uključenih u biosintetski put terpenoida u biljkama izloženim različitim faktorima abiotskog stresa i gajenih na različitim koncentracijama tri vrste šećera.
- Citotoksična aktivnost ekstrakata izdanaka i korena biće analizirana SRB (sulforhodamine B) esejom uz korišćenje 5 tumorskih linija.
- Antimikrobna aktivnost ekstrakata izdanaka i korena biće testirana mikrodilucionom metodom na 8 vrsta Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, kao i na 7 vrsta gljiva. Ovom metodom odrediće se minimalna inhibitorna i minimalna baktericidna koncentracija (MIC i MBC), kao i minimalna inhibitorna i minimalna fungicidna koncentracija (MIC i MFC).
- Antioksidativna aktivnost biće određena DPPH testom, nakon određivanja količina ukupnih slobodnih fenola i flavonoida.

Očekivani rezultati i naučni doprinos:

Uspostavljanje optimalnih uslova za rastenje i razviće *C. creticus* u kulturi *in vitro*, kao i utvrđivanje efekata različitih podloga i abiotskih faktora na produkciju labdanskih diterpena u kontrolisanim uslovima omogućilo bi proizvodnju ovih jedinjenja u velikim količinama i konzistentnijeg kvaliteta. Jasno definisanje faktora i načina na koji oni mogu uticati na regulaciju produkcije labdanskih diterpena predstavljalo bi značajni doprinos u rasvetljavanju biosintetskih puteva sekundarnih metabolita, posebno onih za koje je poznato da poseduju farmaceutska svojstva. Takođe, očekivano je da ovaj rad omogući dalja fundamentalna naučna istraživanja u kojima bi *C. creticus* subsp. *creticus* predstavljala model biljku.

Relevantni polazni bibliografski izvori o predloženom istraživanju:

1. Dimas, K., Demetzos, C., Marsellos, M., Sotiriadou, R., Malamas, M., Kokkinopoulos, D. (1998). Cytotoxic activity of labdane type diterpenes against human leukemic cell lines in vitro. *Planta Med.* 64, 208–11.
2. Falara, V., Fotopoulos, V., Margaritis, T., Anastasaki, T., Pateraki, I., Bosabalidis, A.M., Kafetzopoulos, D., Demetzos, C., Pichersky, E., Kanellis, A.K. (2008). Transcriptome

- analysis approaches for the isolation of trichome-specific genes from the medicinal plant *Cistus creticus* subsp. *creticus*. *Plant Mol. Biol.* 68, 633-651.
3. Falara, V., Pichersky, E., Kanellis, A.K. (2010). A copal-8-ol diphosphate synthase from the angiosperm *Cistus creticus* subsp. *creticus* is a putative key enzyme for the formation of pharmacologically active, oxygen-containing labdane-type diterpenes. *Plant Physiol.* 154, 301–310.
 4. Demetzos, C., Dimas, K., Hatziantoniou, S., Anastasaki, T., Angelopoulou, D., 2001. Cytotoxic and Anti-Inflammatory Activity of Labdane and *cis*- Clerodane Type Diterpenes. *Planta Med.* 67, 614-618.
 5. Bolouri-Moghaddam, M.R., Le Roy, K., Xiang, Li., Rolland, F., Van den Ende, W. (2010). Sugar signalling and antioxidant network connections in plant cells. *The FEBS Journal*, 277: 2022-2037
 6. Karuppusamy, S., 2009. A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by in vitro tissue, organ and cell cultures. *J. Med. Plants Res.* 3(13), 1222-1239.
 7. Neumann, K.H., Kumar, A., Imani, J. (2009). *Plant Cell and Tissue Culture - A Tool in Biotechnology: Basics and Application*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
 8. Macedo, A. F. (2011). Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism to Productivity. In: *Abiotic Stress Responses in Plants - Metabolism, Productivity and Sustainability*, Parvaiz, A., Prasad, M.N.V. (Eds.), XV, 41-61
 9. Zwenger, S., Basu, C. (2008). Plant terpenoids: applications and future potentials. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews* 3(1), 001-007
 10. Lange, M., Turner, G. 2012. Terpenoid biosynthesis in trichomes—current status and future opportunities. *Plant Biotechnology Journal*, 1–21

Institucije u kojima će se obaviti istraživanja

U laboratorijama Odeljenja za fiziologiju biljaka Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“ u Beogradu obaviće se sledeća istraživanja: uspostavljanje i održavanje aseptičnih kultura izdanaka korišćenjem *in vitro* tehnike, histohemijska analiza trihoma, analize u okviru molekularne biologije i bioinženjeringa (genetička transformacija, GUS metoda, PCR analiza, qPCR analiza), analiza antimikrobne i antioksidativne aktivnosti. U Institutu za proučavanje lekovitog bilja „Josif Pančić“ u saradnji sa mr Mihailom Ristićem uradiće se GC-FID, GC-MS i Headspace GC-MS analize. PTR-MS analiza biće obavljena u

Institutu za fiziku u saradnji sa dr Nevenom Puač. U Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije, a u saradnji sa dr Radmilom Janković analiziraće se citotoksična aktivnost.

D. Zaključak i predlog:

Na osnovu izložene dokumentacije, koju je kandidat mr Marijana Skorić, podnela uz prijavu teme za izradu doktorske disertacije i analize odgovarajuće literature koja podržava temu, Komisija zaključuje da je predviđeni predmet istraživanja veoma aktuelan i da obećava relevantan odgovor na postavljeni cilj istraživanja ove doktorske disertacije. Komisija konstatuje da je predložena tema doktorske disertacije mr Marijane Skorić pod naslovom **„Regulacija produkcije labdanskih diterpena u kulturi *in vitro* *Cistus creticus* L. subsp. *creticus* (L.) Greuter & Burdet i analiza njihove biološke aktivnosti“** naučno opravdana, sa adekvatnom i savremenom metodologijom i da će dobijeni rezultati dati značajni naučni doprinos oblasti kojoj tema pripada. Pored toga, dosadašnji objavljeni rezultati kandidata iz šire naučne oblasti fiziologije biljaka potvrđuju da je kandidat kvalifikovan da uspešno izvede doktorsku disertaciju do kraja i na osnovu toga Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu da je prihvati, a da kandidatu odobri njenu izradu. Za mentore izrade disertacije se predlažu dr Slađana Todorović, naučni saradnik Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“ u Beogradu i dr Aneta Sabovljević, docent Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Beograd, 30.03.2013. godine

Komisija:

dr Aneta Sabovljević, docent
Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu

dr Slađana Todorović, naučni saradnik
Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Univerzitet u Beogradu

dr Jasmina Glamočlija, viši naučni saradnik
Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Univerzitet u Beogradu

