

Образац 1.

ШУМАРСКИ ФАКУЛТЕТ

Број захтева:01-8143/1

Датум:27.09.2013.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

Веће научних области биотехничких наука

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на предлог теме докторске дисертације

Молимо да сходно члану 46., став 5. тачка 3. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета бр. 131/06), дате сагласност на предлог теме докторске дисертације:

**„ВАРИЈАБИЛНОСТ ТЕРПЕНСКОГ САСТАВА И МОРФОЛОШКИХ
КАРАКТЕРИСТИКА ЧЕТИНА *TAXUS BACCATA* L. У СРБИЈИ“**

НАУЧНА ОБЛАСТ: Шумарство

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

Милена, Александар, Стефановић

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

Универзитет у Београду-Шумарски факултет

3. Година дипломирања: 2008.

4. Назив магистарске тезе кандидата: -

5. Назив факултета на коме је магистарска теза одбрањена: -

6. Година одбране магистарске тезе: -

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће факултета на седници одржаној 25.09.2013. године размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације

Д Е К А Н

Др Милан Медаревић, ред.проф.

Прилог:

1. Предлог теме докторске дисертације са образложењем

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

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

за кандидата: **Милена Стефановић**

Име и презиме ментора: Др Срђан Бојовић

Звање: научни саветник, Универзитет у Београду-Институт за биолошка истраживања Синиша Станковић,

Списак радова који квалификују коментора за вођење докторске дисертације:

1. Bojovic, S., Jurc, M., Dražić, D., Pavlović, P., Mitrović, M., Djurdjevic, L., Dodd, R., Afzal-Rafii Z. and Barbero M. (2005): Geographical variation and origin identification of *Pinus nigra* populations in Southwestern Europe. *Trees - Structure and Function* 19, 531-538. (M21)

2.Bojović, S., Nikolić, B., Ristić, M., Orlović, S., Veselinović, M., Rakonjac, Lj. and Dražić, D. (2011): Variability in Chemical Composition and Abundance of the Rare Tertiary Relict *Pinus heldreichii* in Serbia. *Chemistry & Biodiversity* 8(9): 1754-1765. (M22)

3. Bojović, S., Šarac, Z., Nikolić, B., Tešević, V., Todosijević, M., Veljić, M. and Petar D. Marin, P.D (2012): Composition of *n*-Alkanes in natural populations of *Pinus nigra* from Serbia - a chemotaxonomic implications. *Chemistry & Biodiversity* 9(12): 2761-2774. (M22)

4. Mijović, A., Popović, Z., Vukov, T., Smiljanić, M., Matić, R., **Bojović, S.** (2012): Sand topography influences the distribution of xerohalophytic vegetation on a southern Adriatic beach in Montenegro. *Plant Biosystems* 146(3): 664-673. (M22)

5. Bojović, S., Heizmann, Ph., Dražić, D., Kovačević, D., Marin, P., Popović, Z., Matić, R., Jurc, M. (2013): Diversity of *Fraxinus ornus* from Serbia and Montenegro as revealed by RAPDs. *Genetika* 45(1): 51-62. (M23)

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 пет радова са SCI, SSCI, AHCI или SCIE листе, као и Math-Net.Ru листе.

Декан Шумарског факултета

Датум:27.09.2013.

Проф. др Милан Медаревић

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ШУМАРСКИ ФАКУЛТЕТ
Број: 01-7895/1
Датум: 26.09.2013.
Б Е О Г Р А Д

На основу члана 154. Статута Универзитета у Београду-Шумарског факултета, а на основу Извештаја Комисије бр. 4958/3 од 06.09.2013. године, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 25.09.2013. године донело је

О Д Л У К У

Усваја се научна заснованост теме докторске дисертације **кандидата Милене Стефановић** под насловом: „**Варијабилност терпенског састава и морфолошких карактеристика четина *TAXUS BACCATA* L. у Србији**“.

Одређује се ментор др Срђан Бојовић, научни саветник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Универзитета у Београду.

Одлуку доставити: кандидату, ментору, Служби за наставу и студентска питања x2, декану, писарници.

Председник
Наставно-научног већа
Проф. др МИЛАН МЕДАРЕВИЋ

ОБРАЗАЦ ЗА ПИСАЊЕ ИЗВЕШТАЈА О НАУЧНОЈ ЗАСНОВАНОСТИ ТЕМЕ И
КАНДИДАТА ЗА ИЗРАДУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ
-обавезна садржина-

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
1. Орган који је именовао (изабрао) комисију и датум: Научно-наставно веће Универзитета у Београду-Шумарског факултета, на седници одржаној 26.06.2013. године, број одлуке 01-5403/1. 2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датум избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен: Др Срђан Бојовић, научни саветник, биолошке науке, 31.05.2006., Универзитет у Београду-Институт за биолошка истраживања Синиша Станковић, Др Драгица Обратов-Петковић, редовни професор, пејзажна архитектура и хортикултура, 13.02.2008., Универзитет у Београду-Шумарски факултет, Др Мирјана Оцокољић, ванредни професор, пејзажна архитектура и хортикултура, 09.11.2011., Универзитет у Београду-Шумарски факултет, Др Матилда Ђукић, редовни професор, пејзажна архитектура и хортикултура, 29.12.2005., Универзитет у Београду-Шумарски факултет, Др Биљана Николић, виши научни сарадник, биотехничке науке, 31.10.2012., Институт за шумарство, Београд.
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
1. Име, име једног родитеља, презиме: Милена, Александар, Стефановић 2. Датум и место рођења, општина, држава: 08.08.1983., Београд, Савски Венац, Србија 3. Датум одбране, место и назив магистарске тезе/мастер рада: 4. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука/мастера: 5. Приказ научних и стручних радова са оценом (референце кандидата): Дипл. инж. Милена Стефановић је до сада објавила 2 рада, категорија M_{23} и M_{51}, и два саопштења са међународног скупа штампана у изводу M_{34}. Stefanović, M., Mitrović, S., Obratov-Petković, D., Vidaković, V., Popović, Z., Matić, R., Bojović, S. 2013. Reprezentativnost uzorka pri oceni varijabilnosti sadržaja terpena

kod munike. Glasnik Šumarskog fakulteta 107: 193-204. (M₅₁=2)

Popović, Z., **Stefanović, M.**, Smiljanić, M., Matić, R., Kostić, M., Vidaković, V. and Bojović, S. 2012. Sex expression in Serbian dendroflora – a case study of *Fraxinus ornus* var. *angustifolia*. Archives of Biological Sciences 64: 107-111. (M₂₃=3)

Stefanović, M., Smiljanić, M., Cindrić, M., Matić, R., Popović, Z., Bojović, S. 2011. Tree sex expression. 19th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society, 13-15 June 2011, Banja Vrujci-Serbia, Abstract 118. (M₃₄=0,5)

Stefanović, M., Obratov-Petković, D., Bojović, S. 2010. Analysis of scientific information: studies of sycamore maple. First Serbian Forestry Congress – Future with Forests, 11-13 November, Belgrade-Serbia, Abstract 153. (M₃₄=0,5)

III ОБРАЗЛОЖЕНИ КРИТЕРИЈУМИ И РАЗЛОЗИ НА ОСНОВУ КОЈИХ СЕ ЗАСНИВА ПОЗИТИВНА ОЦЕНА ДА ЈЕ КАНДИДАТ ПОДОБАН ДА РАДИ ДИСЕРТАЦИЈУ

Дипл. инж. Милена Стефановић завршила је Шумарски факултет, Одсек за пејзажну архитектуру и хортикултуру 2008. год. са просечном оценом 8,81. Докторске студије на Шумарском факултету, област Пејзажна архитектура и хортикултура уписала је школске 2009/10. год. На докторским студијама положила је све испите и одбранила семинарски рад под називом "Експресија полности код дрвећа – Уводна разматрања". Одбранила је пројекат докторске дисертације под називом „Варијабилност садржаја секундарних метаболита између различитих сексуалних форми код дрвећа“.

РАДНО ИСКУСТВО

2011 – данас Истраживач приправник на пројекту основних истраживања Министарства науке и технолошког развоја: Процена екофизиолошког и генетичког диверзитета биљака у шумским екосистемима (пројекат 173011, руководилац др Срђан Бојовић, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“)

СТРУЧНЕ ПРАКСЕ

2006 (септембар) “Landscape management in practice” – међународна пракса у области Управљања заштићеним природним ресурсима, у организацији Шумарског факултета у Београду и Факултета за шумарство и животну средину Универзитета у Фрајбургу. Циљ праксе је била израда Integrated Landscape Management Plan- а за подручје Националног парка Тара.

СТРАНИ ЈЕЗИЦИ

Енглески – напредни

Немачки – почетни

ЧЛАНСТВА У НАУЧНИМ ДРУШТВИМА И НВО

2011 – Друштво за физиологију биљака Србије

2006 – 2010 Зелена омладина Србије

IV ОЦЕНА ПОДОБНОСТИ ПРЕДЛОЖЕНОГ МЕНТОРА

Др Срђан Р. БОЈОВИЋ рођен је 28.10.1958. године (Горажде, ex-СФРЈ). Основну школу завршио је у родном месту, а гимназију и Шумарски факултет у Београду. Дипломирао је 1984., а магистрирао 1989. године. Од 1990. до 1995. године је боравио на научном усавршавању у Француској као стипендиста Француске владе. Првих 6 месеци у Нансију а остало време у Марсеју у лабораторијама за популациону генетику и генетику шумског дрвећа. Докторирао је у Француској 30. 06. 1995. године из области биологије и физиологије биљака, као стипендиста француске владе, на факултету Сен-Жером у Марсеју. Наслов докторске дисертације је „Biodiversité du pin noir (*Pinus nigra* Arn.) en region méditerranéenne“ („Биодиверзитет црног бора у подручју Медитерана“). Канадска влада му је такође доделила стипендију за научно усавршавање 1991/92. али је није користио. У звање научни сарадник изабран је 20.03.1996., у звање виши научни сарадник 27.03.2001., а у звање научни саветник 31.05.2006. У звање редовни професор изабран је 18.09.2006. на Факултету за примењену екологију, Универзитета Сингидунум (Београд) за ужу научну област: наука о животној средини, предмет: биодиверзитет. Руководи(о) домаћим и међународним пројектима: (2011-2014): Процена екофизиолошког и генетичког диверзитета биљака у шумским екосистемима (пројекат 173011, основна истраживања, Министарство просвете и науке Републике Србије. (2001-2005): Биодиверзитет и очување генофонда дрвећа у Србији, (пројекат 1932, основна истраживања, Министарство за науку и заштиту животне средине Србије). (2002): Биодиверзитет ендемичног и реликтног шумског дрвећа Балкана (ко-руководилац пројекта, Програм СОСОР, Француско министарство иностраних послова). (1997-1998): Biodiversité du frêne à fleurs - aspect du polymorphisme sexuel - biologie de la conservation, Биодиверзитет црног јасена аспект сексуалног полиморфизма и очување врсте (ко-руководилац пројекта, пројекат 9643, Савезно министарство за развој, науку и животну средину, Југословенско-Француска научна сарадња). Као члан тима до сада учествовао у реализацији 10 националних и 4 међународна пројекта. Последокторска истраживања од годину дана обавио је у Лиону у елитној француској високошколској установи - ЕНСЛ. У звање доцента на Универзитету у Француској квалификовао се 1998. Исте године, у октобру, као професор по позиву држао је предавања последипломцима на Факултету Сен Жером у Марсеју. На позиве Француске владе у мају 2001, децембру 2002 (од 8 до 21. 12. 2002) и јуну 2007 (од 1 до 30. 06. 2007) боравио је у посети француским научно истраживачким установама са циљем осмишљавања заједничких пројеката из области очувања биодиверзитета и природних ресурса. До сада објавио 150 наслова од чега 34 рада у часописима са импакт фактором. Запослен у Институту за Биолошка истраживања "Синиша Станковић" (одељење Екологија).

Радови са SCI листе:

Навести 5 радова са SCI листе

Bojović, S., Jurc, M., Dražić, D., Pavlović, P., Mitrović, M., Djurdjevic, L., Dodd, R., Afzal-Rafii Z. and Barbero M. (2005): Geographical variation and origin identification of *Pinus nigra* populations in Southwestern Europe. *Trees - Structure and Function* 19, 531-538. (M21)

Bojović, S., Nikolić, B., Ristić, M., Orlović, S., Veselinović, M., Rakonjac, Lj. and Dražić, D. (2011): Variability in Chemical Composition and Abundance of the Rare Tertiary Relict *Pinus heldreichii* in Serbia. *Chemistry & Biodiversity* 8(9): 1754-1765. (M22)

Bojović, S., Šarac, Z., Nikolić, B., Tešević, V., Todosijević, M., Veljić, M. and Petar D. Marin, P.D (2012): Composition of *n*-Alkanes in natural populations of *Pinus nigra* from Serbia - a chemotaxonomic implications. *Chemistry & Biodiversity* 9(12): 2761-2774. (M22)

Mijović, A., Popović, Z., Vukov, T., Smiljanić, M., Matić, R., **Bojović, S.** (2012): Sand topography influences the distribution of xerohalophytic vegetation on a southern Adriatic beach in Montenegro. *Plant Biosystems* 146(3): 664-673. (M22)

Bojović, S., Heizmann, Ph., Dražić, D., Kovačević, D., Marin, P., Popović, Z., Matić, R., Jurc, M. (2013): Diversity of *Fraxinus ornus* from Serbia and Montenegro as revealed by RAPDs. *Genetika* 45(1): 51-62. (M23)

V ОЦЕНА НАУЧНЕ ЗАСНОВАНОСТИ ТЕМЕ:

ОЦЕНА:

1. Формулације назива тезе (наслова)

"Варијабилност терпенског састава и морфолошких карактеристика четина *Taxus baccata* L. у Србији"

2. Предмета (проблема) истраживања

Предмет истраживања је проучавање варијабилности садржаја и састава етарског уља и морфолошких карактеристика четина тисе у њеним природним популацијама у Србији.

Тиса (*Taxus baccata* L.) је спорорастуће зимзелено дрво или жбун, из пододељка *Rynophyta* (голосеменице), класе *Pinopsida*, реда *Taxales*, фамилије *Taxaceae*, висине до 15 m, са вишеструким стаблима и широком заобљеном или купастом крошњом (Oсokoljić i Ninić-Todorović, 2003; Thomas and Polwart, 2003). Припада роду *Taxus* L. који обухвата 8 врста (*Taxus baccata* L., *Taxus cuspidata* Siebold & Zucc., *Taxus wallichiana* Zucc., *Taxus sumatrana* (Miq.) de Laub., *Taxus globosa* Schltdl., *Taxus brevifolia* Nutt., *Taxus floridana* Nutt. ex Chapm. и *Taxus canadensis* Marshall (Spjut, 2007)) и више од 70 описаних нижих таксона варијетета и култивара (Thomas and Polwart, 2003). На основу морфолошких анализа неки аутори сматрају да се врсте из рода *Taxus* могу подвести под једну врсту – *Taxus baccata* L. (Fukarek, 1957; Burns and Honkala, 1990; Dempsey and Hook, 2000; Thomas and Polwart, 2003), с обзиром да међу њима нису установљена морфолошка својстава од таксономског значаја.

Taxus baccata L. је распрострањена у Европи, западној Азији и северозападној Африци. Велике популације се налазе у Украјини, Пољској, Словачкој, Румунији и на Кавказу (Bugala, 1978). У осталим деловима Европе и Медитерана расте у малим, изолованим популацијама, групама или као појединачна стабла.

У Србији се природне популације тисе, такође, налазе на изолованим локалитетима, обично у клисурама и кањонима, на стрмим планинским косинама (Pulević, 2001 према Obratov-Petković, 2002). Ови рефугијуми, тешко доступни утицају човека, омогућили су очување бројних терцијарних реликата међу којима је и тиса. Према IUCN-овој црвеној листи (2012), тиса је сврстана у категорију "Последња брига" ("Least Concern"), коју чине таксони који нису издвојени као зависни од заштите, а ни као скоро угрожени (Stevanović i Vasić, 1995). Ипак, у Србији је строго заштићена врста с обзиром да је врло ретка и угрожена (Правилник о проглашењу и заштити строго заштићених и заштићених дивљих врста биљака, животиња и гљива, "Службени гласник РС", бр. 5/2010). Такође, тиса представља још једну реткост међу четинарима, и то са аспекта сексуалности (Iszkuło et al., 2009). Она је дводомна врста, индивидуе су мушке или женске, што имплицира теоретски и практични значај проучавања ове појаве код биљака (Popović et al. 2012, Iszkuło et al., 2013). Мушки цветови су округласти на кратким дршкама, формирају се на наличју, у пазуху четина на прошлогодишњим избојцима. Женски цветови су висећи на дршкама, у пазуху четина (Dallimore and Jackson, 1923; Ocokoljić i Ninić-Todorović, 2003).

Биохемијски приступи су данас есенцијелни у фундаменталним истраживањима диверзитета биљака. Терпени се често користе у истраживањима диверзитета и географске варијабилности врста, нарочито код четинара. Монотерпени и сесквитерпени су испарљиве компоненте етарских уља великог броја фамилија голосеменица и неких скривеносеменица. Otto и Wilde (2001) су указали на значај терпеноида у хемотаксономији и филогенији четинара, као и њихову применљивост као генетичких маркера на различитим таксономским нивоима. Терпени четинара, као еколошки и хемотаксономски маркери, најпре су коришћени на нивоу рода, и то *Pinus* L. (Mirov, 1961), *Picea* A. Dietr. (von Rudloff, 1967), *Abies* Mill. (Zavarin, 1968), а касније и на нивоу фамилија Pinaceae Lindley и Cupressaceae Bartlett (von Rudloff, 1975; Yatagai and Sato, 1986). Међутим, терпени се много чешће користе за процену географске варијабилности врста (von Rudloff, 1973; Lapp and von Rudloff, 1982). У Србији и региону спроведена су истраживања варијабилности састава етарског уља из четина на следећим реликтним и ендемичним (односно субендемичним) врстама: *Picea omorika* (Pančić) Purkyne, *Pinus peuce* Griseb. и *Pinus heldreichii* Christ (Nikolić et al., 2007; Nikolić et al., 2008; Nikolić et al., 2009; Bojović et al., 2011). Главни циљ ових истраживања био је да се прошири знање о диверзитету и таксономији ових врста. Код све три врсте установљена је висока варијабилност између и унутар популација у односу на састав терпена, као и специфичан диверзитет појединих популација у односу на одређене комбинације терпена. Веза између одређених еколошких фактора (геолошка подлога) и диверзитета терпена установљена је код *Pinus heldreichii* Christ. и *Pinus peuce* Griseb., али не и код *Picea omorika* (Pančić) Purkyne (Nikolić et al., 2011). Radulović et al. (2010) су урадили квалитативне анализе састава етарског уља из четина тисе, али без квантитативних поређења терпенског састава између популација. Предмет истраживања рада је и проучавање квалитативних и квантитативних разлика у терпенском профилу мушких и женских индивидуа. Постоји мали број студија који разматра разликовање полова код тисе на основу хемијског састава (Iszkuło et al., 2009; Migas and Switka, 2010; Iszkuło et al., 2013). Осим прецизнијег таксономског и филогенетског позиционирања тисе истраживања ће дати допринос конзервацији врсте.

3. Познавања проблематике на основу изабране литературе

Taxus baccata L. је ишчезла на многим локалитетима из ког разлога је њен ареал сведен на мале изоловане популације у многим деловима Европе (Svenning and

Magard, 1999). Главни разлози за нестајање тисе су неконтролисана сеча шума, селективна сеча и испаша хербивора (Bugala, 1978; Czatoryski, 1978b; Tittensor, 1980). Многе постојеће популације тисе, од Енглеске до Кавказа, су угрожене услед слабог природног обнављања (Czatoryski, 1978a; Hulme, 1996; Tittensor, 1980). García et al. (2000) наводе да су одређени средински микроклиматски фактори неопходни (сеновите и магловите увале на северно експонираним планинским пределима), али не и довољни за успешно обнављање популација тисе у Андалузији. Њихова студија указује да је природно обнављање тисе на површинама које су изложене утицају хербивора у великој мери условљено присуством жбуња са сочним плодовима. Биљке са сочним плодовима обезбеђују микростаништа у којима се развијају саднице тисе (Williamson, 1978, према Hulme, 1996; García et al., 2000). Жбуње, осим што је нејестиво за хербиворе, механички штити саднице, густим склопом грана (као код *Juniperus communis* L. и *Juniperus sabina* L.) или присуством трнова (*Berberis hispanica* Boiss. & Reuter, *Rosa* spp. и *Prunus ramburii* Boiss.). García et al. (2000) су указали да је природно обнављање тисе потпомогнуто жбуњем са сочним плодовима и у популацијама изван Медитерана. Један од разлога слабог природног обнављања тисе може бити и губитак женских индивидуа у конкуренцији са мушким унутар популација (Iszkulo et al., 2009). Код дводомних врста, мушке и женске индивидуе треба да задовоље различите репродуктивне захтеве. Женске индивидуе због репродуктивне функције имају интензивније физиолошке процесе што резултира различитом прерасподелом ресурса код мушких и женских индивидуа (Obeso, 2002). Овакав феномен је такође забележен код тисе (Iszkulo et al., 2009; Cedro and Iszkulo, 2011). Висока варијабилност у садржају таксана установљена је не само између различитих врста тисе, него и на интраспецијском нивоу, између култивара (van Rozendaal et al., 2000) и између мушких и женских индивидуа (Migas and Switka, 2010). У својој студији Iszkulo et al. (2013) су установили да постоје разлике у садржају таксана између мушких и женских индивидуа *Taxus baccata* L. Женске индивидуе се карактеришу вишим концентрацијама таксана у односу на мушке, што се објашњава разликама у метаболизму полова. Код дводомних врста женске индивидуе обично спорије расту због репродуктивних процеса. Такође, неке студије наводе да женске индивидуе карактерише интензивнија размена гасова (која обезбеђује интензивније физиолошке процесе) у односу на мушке индивидуе (Dawson and Ehleringer, 1993). У вези са тим, женске индивидуе имају веће концентрације секундарних метаболита базираних на угљенику (Jing and Coley, 1990).

У етарском уљу из четина *Taxus baccata* L. из Србије, удео терпеноида чине монотерпеноиди и дитерпеноиди (углавном оксигеновани деривати) док сесквитерпени нису детектовани. Студија која испитује гликозидно везана испарљива једињења из *Taxus baccata* L. из Турске, открива присуство сличног профила монотерпеноида и испарљивих дитерпеноида, али су додатно идентификовани и испарљиви сесквитерпеноиди који припадају различитим структурним класама (Erdemoglu et al., 2003). Једно од могућих објашњења је да биљни материјал из Србије садржи само гликозидно везане сесквитерпеноиде који не испаравају у условима хидродестилације. Такође, пол анализираних индивидуа може имати улогу у испољавању одређених разлика у профилу терпена (у студији из Србије анализиране су само мушке индивидуе) (Radulović et al., 2010). Dempsey и Hook (2000) су утврдили да постоје велике варијације у морфолошким и хемијским карактеристикама (садржају паклитаксела) између варијетета тисе, али нису пронашли довољно карактеристичних разлика од таксономског значаја на интерспецијском нивоу између различитих *Taxus* L. врста.

Морфолошки гледано, врсте из рода *Taxus* L. су јако сличне, тако да их неки аутори свраставају под једну врсту – *Taxus baccata* L. (Fukarek, 1957; Burns and Honkala,

1990; Dempsey and Hook, 2000; Thomas and Polwart, 2003). Број редова стома на једној половини наличја четина је од великог значаја за класификацију врста у оквиру рода *Taxus* L. (Strobel et al., 1996; Spjut, 2007; Iszkulo et al. 2009). Према Strobel et al. (1996) северноамеричке *Taxus* L. врсте имају 3-5 редова стома, док евроазијске врсте карактерише 7-10 редова. Многи аутори (Salisbury, 1927; Mitchell, 1998; Dempsey and Hook, 2000; Iszkulo et al., 2009; Schirone et al., 2010), такође, сматрају да је густина стома значајна таксономска и еколошка карактеристика. Salisbury (1927) наводи да је просечна густина стома код *Taxus baccata* L. 115 стома по mm^2 површине четине, док је Mitchell (1998) описао просечну густину од 89,4 по mm^2 површине четине, за четине на пуној светлости. Dempsey и Hook (2000) су забележили вредности између 82,28 и 119,53 по mm^2 површине четине код различитих култивара *Taxus baccata* L., као и веће вредности код других врста тисе. Iszkulo et al. (2009) су евидентирали веће густине стома код женских (75,06 по mm^2 површине четине) у односу на мушке индивидуе (68,64 по mm^2 површине четине).

4. Циљева истраживања

- Утврђивање састава, садржаја и популационе варијабилности терпенских угљоводоника и њихових деривата у четинама тисе;
- Утврђивање квалитативних и квантитативних разлика између терпенског профила мушких и женских индивидуа;
- Упознавање популационе варијабилности морфолошких карактеристика четина тисе;
- Утврђивање степена повезаности између морфолошке и биохемијске диференцијације код тисе;
- Утврђивање таксономског значаја морфолошких и биохемијских маркера код тисе;
- Формирање платформе за конзервацију популација тисе као аутохтоне, строго заштићене врсте у Србији.

5. Очекиваних резултата (хипотезе)

Иако су спроведене бројне студије, постоји само неколико рефернеци о испарљивим компонентама које производе врсте из рода *Taxus* L. (Khan et al., 2006; Jean et al., 1993; Erdemoglu et al., 2003; Merksand Svendsen, 1990). Radulović et al. (2010) су први испитали састав етарског уља *Taxus baccata* L. добијеног директно из биљног материјала (без подвргавања неком третману пре хидродестилације). Пре тога анализирани су само извештаји везани за гликозидно везане испарљиве компоненте (Erdemoglu et al., 2003). До сада нису рађена квалитативна и квантитативна поређења састава етарског уља из различитих популација *Taxus baccata* L. Ова студија биће прво истраживање унутар- и међупопулационе варијабилности у погледу профила терпена из етарског уља четина *Taxus baccata* L. у природним популацијама у Србији. Резултати који се очекују биће стабилна научна основа за спровођење мера заштите биодиверзитета и проналажења начина за конзервацију ове аутохтоне, угрожене врсте.

Migas and Switka (2010) су установили да постоји варијабилност у садржају таксола (паклитаксела) између мушких и женских индивидуа тисе, док Mukherjee et al. (2002) нису успели да докажу везу полности и садржаја паклитаксела код *Taxus*

wallichiana Zucc. Iszkuło et al. (2013) у својој студији наводе да постоје значајне разлике у садржају два таксана (10-деацетилбакатин III и паклитаксела) између мушких и женских индивидуа *Taxus baccata* L. Сличне разлике између индивидуа различитих полова би могле постојати у погледу садржаја појединих конституената етарског уља. Доказивање разлике у профилу терпена између мушких и женских индивидуа би фаворизовало одређени пол за употребу у фармацеутској индустрији. Докторска дисертација је усмерена, пре свега, на идентификацију специфичности појединих популација тисе у погледу терпенског састава етарског уља.

6. Плана рада

План рада обухвата следеће фазе: прикупљање и систематизацију научне литературе, теренски и лабораторијски рад, обраду података, презентацију и тумачење резултата. Теренски рад обухвата истраживања током 2012. и 2013. године у фази мировања вегетације. Теренска истраживања која су базирана на претходно проученим литерарним изворима потврдила су да су природне популације тисе у Србији заиста ретке. Да би се што боље упознао полазни материјал тежило се да се обухвати што већа фенотипска и генетичка варијабилност тисе, а то подразумева издвајање популација у биогеографски разноврсним и контрастним условима (Тисовић, 1985). Узорци ће се прикупити из популација са три различита географска локалитета у Србији. Из сваке популације узорци ће се прикупити са приближно једнаког броја женских и мушких индивидуа. За сваку популацију, на адекватном узорку, евидентираће се морфолошке карактеристике: дужина и ширина четина, површина четина, број редова стома на једној половини лисне површине и густина стома.

Из сваког узорка изоловаће се етарско уље, поступком хидродестилације, које ће се анализирати гасном хроматографијом. Компоненте етарског уља идентификоваће се поређењем добијених експерименталних гасних и гасно-масених хроматограма са литературним вредностима ретенционих индекса. За идентификацију компонената користиће се програм Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System (AMDIS ver.2.1.) и библиотеке Wiley275 и NIST/NBS.

Након идентификације компоненти етарског уља, одредиће се квалитативне и квантитативне разлике у профилу терпена између мушких и женских индивидуа у оквиру популација и варирање између популација. На основу интраспецијске варијабилности морфолошких карактеристика и састава етарског уља покушаће да се издвоје ниже таксономске јединице.

7. Метода и узорка истраживања

Методе које ће бити примењене:

Испитивање морфолошких карактеристика четина

Од морфолошких карактеристика четина анализираће се дужина и ширина четина, површина четина, број редова стома на једној половини лисне површине и густина стома.

Четине ће се до мерења чувати у замрзивачу на температури од -20°C . Са сваког стабла скенираће се по 50 двогодишњих четина, које ће бити измерене помоћу програма за обраду и анализу слике у Javi – ImageJ. Број редова стома и густина стома утврђиваће се на 10 двогодишњих четина са сваког стабла, уз помоћ светлосног микроскопа „Leica Galen III“ са камером „Topica TP - 5001“ (са

објективом увећања 10х). Фотографије површине четина ће се изградити у лабораторији Пољопривредног факултета у Београду на скенирајућем електронском микроскопу Jeol JSM-6390LV са увећањима 150х и 1200х. Пре снимања узорци ће се напарити златом на уређају BAL-TEC SCD 005 Sputter Coater (притисак у комори $2,5 \times 10^{-1}$ mbar, струја напаравања 30mA и време 100 секунди).

Екстракција етарског уља

Екстракција етарског уља из четина ће се обавити поступком дестилације воденом паром по Clevenger-у, на узорку од око 1200 g гранчица са четинама (са сваког стабла) које ће се до екстракције чувати у замрзивачу на температури од -20°C . Гранчице и четине ће се пре екстракције уситњавати у блендеру. За сваки узорак радиће се 4 сукцесивне екстракције од по 300 g у трајању од 3 сата. У изоловано уље додаваће се растварач пентан, а затим ће се раствор филтрирати преко анхидрованог натријум сулфата. Растворено уље чуваће се у виалама на температури од 4°C до гасно хроматографске анализе.

Гасна хроматографија са масеном спектрометријом

Састав етарског уља испитиваће се гасном хроматографијом (GC-FID) и комбинацијом гасне хроматографије и масене спектрометрије (GC-MS). За гасно хроматографску анализу користиће се гасни хроматограф Agilent Technologies, модел 7890A, са пламенојонизационим детектором (FID), колоном HP-5 (30m x 0,32mm, дебљина филма 0,25 микрометара), инјектором са split/splitless режимом инјектовања и аутосемплером. Гасно хроматографска анализа ће се изводити под следећим условима: проток носећег гаса (H_2) је 1 ml/min, температура инјектора 250°C , детектора 300°C , док је температура колоне линеарно програмирана од 40 - 260°C ($4^{\circ}\text{C}/\text{min}$). Наведени аналитички услови ће се користити и у GC-MS анализама, са колоном HP-5MS (30m x 0,25mm, дебљина филма 0,25 микрометара) на HP G 1800C Series II GCD систему. Уместо водоника, користиће се хелијум као носећи гас.

Оцена узорка истраживања

Број јединица које обезбеђују репрезентативност узорка је од великог значаја, посебно када су у питању ретке и угрожене врсте дрвећа, каква је тиса у Србији. Потребно је одредити довољно репрезентативан узорак и не повећавати га сувишно, што би само повећало економске трошкове истраживања (теренске и лабораторијске трошкове). Да би се наведено постигло, спроведено је истраживање варијабилности садржаја терпена на популацији мунике (Stefanović et al., 2013) базирано на компарацији са ранијим истраживањима ове врсте у Србији (Војовић et al., 2011) на основу ког је утврђен узорак за анализу у овом истраживању од 20 стабала (утврђена средња вредност репрезентовала би основни скуп са вероватноћом већом од 95 %).

8. Места, лабораторије и опреме за експериментални рад

Истраживањем ће бити обухваћене три природне популације тисе у Србији (западног, централног и источног дела територије) са следећих локалитета: НП Тара (Растиште), НП Копаник (Брзеће) и планина Малиник.

У западној Србији, на подручју НП Тара тиса је ретка. Величину узорка од 20 стабала није било могуће обезбедити на овом локалитету јер су већином присутне

младе биљке, без довољно биљне масе и овакво узорковање би их трајно оштетило. Истраживањем је обухваћено 7 индивидуа тисе (3 женска и 4 мушка). Два доминантна стабла, мушко и женско, налазе се у К.О. Растиште (место Пожар) на приватном поседу староседеоца Ђорђа Миловановића. Истраживањем је обухваћено још 5 индивидуа у ближој околини имања (у пречнику од 1-2 km). Vilotić et al. (2011) наводе да је природно подмлађивање тисе одлично на овом локалитету, на надморској висини од 950 m и да би се у будућности, захваљујући одговарајућим микроклиматским условима и уз стручан надзор особља НП Тара, могла формирати чиста састојина тисе. Због тога се у оквиру програма заштите и развоја НП Тара овој популацији треба посветити посебна пажња.

У централној Србији, у оквиру НП Копаоник, на десној страни клисуре Брзећке реке налази се резерват природе "Јелак". У резервату се налази ретка заједница *Taxo-Abieti-Fagetum* ass. nova, на надморској висини од 1090-1440 m, на северној и северозападној експозицији, на кречњачкој подлози и кисело смеђем земљишту (Obratov-Petković et al., 2002). Истраживањем ће бити обухваћено 20 стабла тисе (10 женских и 10 мушких) из ове заједнице. У овој популацији није запажено природно обнављање тисе.

У источној Србији, на планини Малиник, у оквиру ЈП Србијашуме, ШГ Тимочке шуме, ШУ Бор (оделења 8, 9 и 10) налази се популација тисе (на основу усменог саопштења шефа шумске управе). Планирано је да истраживање обухвати 20 индивидуа из ове популације.

Експериментална истраживања ће се обавити на Институту за биолошка истраживања "Синиша Станковић" Универзитета у Београду, Институту за проучавање лековитог биља "Др Јосиф Панчић" у Београду и Институту за шумарство у Београду.

9. Методе статистичке обраде података осталих релевантних података

За статистичку обраду података користиће се стандардне и мултиваријационе статистичке анализе и тестови: χ^2 тест, анализа варијансе (ANOVA), корелациона анализа, кластер анализа, анализа главних компоненти (PCA) и друге у програмима Statgraphics, Statistica, Statoscope и др.

Докторска дисертација ће бити реализована у оквиру пројекта основних истраживања који финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (ОИ-173011): "Процена екофизиолошког и генетичког диверзитета биљака у шумским екосистемима" (број ангажованих истраживача: 8, руководилац пројекта: Др С. Бојовић).

VI ЗАКЉУЧАК СА ОБРАЗЛОЖЕНОМ ОЦЕНОМ О НАУЧНОЈ ЗАСНОВАНОСТИ ТЕМЕ И ПОДОБНОСТИ КАНДИДАТА:

Докторска дисертација кандидаткиње дипл. инж. Милене Стефановић полази од претпоставке да шумска аутохтона флора Србије садржи популације тисе које својим присуством, специфичном генетичком структуром, хемијским саставом, физиолошким, морфолошким и репродуктивним својствима откривају боље разумевање адаптивног потенцијала локалних популација да опстану у неповољним условима животне средине. У Србији се природне популације тисе

налазе на изолованим локалитетима, обично у клисурама и кањонима, на стрмим планинским косинама. Ови рефугијуми, тешко доступни утицају човека, омогућили су очување бројних терцијарних реликата. Докторска дисертација кандидаткиње је усмерена, пре свега, на проучавање варијабилности садржаја и састава етарског уља и морфолошких карактеристика четина тисе у њеним природним популацијама у Србији. Резултати који се очекују треба да буду стабилна научна основа очувања биодиверзитета и директна подршка спровођењу међународних обавеза о заштити биодиверзитета шумских екосистема и угрожених врста каква је тиса у Србији. Тиме би њихова вредност била не само локалног, већ и глобалног карактера. Методе и хипотезе из ове дисертације, засноване су на савременим научним достигнућима. Кандидаткиња ће користити биохемијски приступ који је данас есенцијелни у фундаменталним истраживањима диверзитета биљака.

На основу научне заснованости теме, предложених метода, обима истраживања и резултата који се очекују, Комисија предлаже Научно наставном већу Универзитета у Београду-Шумарског факултета, да прихвати предложену тему под насловом **ВАРИЈАБИЛНОСТ ТЕРПЕНСКОГ САСТАВА И МОРФОЛОШКИХ КАРАКТЕРИСТИКА ЧЕТИНА *TAXUS BACCATA* L. У СРБИЈИ**

За ментора докторске дисертације Комисија предлаже Др Срђана Бојовића, научног саветника Института за биолошка истраживања Синиша Станковић, Универзитета у Београду.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Др Срђан Бојовић, научни саветник, Институт за биолошка истраживања Синиша Станковић, Универзитет у Београду

Др Драгица Обратов-Петковић, редовни професор Шумарски факултет, Универзитет у Београду

Др Мирјана Оцокољић, ванредни професор Шумарски факултет, Универзитет у Београду

Др Матилда Ђукић, редовни професор Шумарски факултет, Универзитет у Београду

Др Биљана Николић, виши научни сарадник Институт за шумарство, Београд

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.