

## НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На V редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 09.03.2018. године, прихваћен је извештај ментора др Зорице Поповић и др Раде Матић о урађеној докторској дисертацији Јасне Бајић-Љубичић под насловом „**Варијабилност садржаја одабраних фенолних једињења у екстрактима плодова пет шумских дрвенастих врста са различитих станишта у Србији**“, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Зорица Поповић, виши научни сарадник Института за биолошка истраживања "Синиша Станковић", др Рада Матић, виши научни сарадник Института за биолошка истраживања "Синиша Станковић", др Јасмина Шинжар Секулић, ванредни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Веле Тешевић, ванредни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду, у Београду, др Ана Џамић, ванредни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду. Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Већу подноси следећи

### ИЗВЕШТАЈ

#### Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација Јасне Бајић-Љубичић, под насловом „**Варијабилност садржаја одабраних фенолних једињења у екстрактима плодова пет шумских дрвенастих врста са различитих станишта у Србији**“ написана је према Упутствима за обликовање докторске дисертације Универзитета у Београду и обухвата 293 стране компјутерски обрађеног текста. Дисертација садржи: 15 табела (1 у Уводном делу, 1 у поглављу Материјал и методе и 13 у поглављу Резултати и дискусија), 143 слике (30 у поглављу Увод, 4 у поглављу Материјал и методе и 109 у поглављу Резултати) и 503 библиографске јединице. На почетку дисертације приложен је апстракт на српском и енглеском језику (без пагинације). Пагинирани текст подељен је у 7 поглавља: Увод, Полазне хипотезе - Циљеви рада, Материјал и методе рада, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература.

#### Анализа докторске дисертације:

У докторској дисертацији кандидаткиња Јасна Бајић-Љубичић приказала је варијабилност садржаја шест фенолних једињења у плодовима пет шумских дрвенастих врста са различитих станишта у Србији, кроз резултате фитохемијских квалитативних и квантитативних анализа и еколошко-хемијску анализу корелисаности садржаја

испитиваних једињења са срединским факторима. У поглављу **УВОД**, кандидаткиња је у оквиру шест подпоглавља дала детаљан приказ савремених истраживања која се односе на проблематику докторске дисертације, пружајући преглед истраживања секундарних метаболита и биолошки активних једињења, нарочито фенола, и појединачно шест једињења која су испитивана у овом раду (неохлорогена киселина [5-*O*-кафеоилхинска киселина]) и пет флавоноида (кверцитурон [кверцетин-3-*O*-глукуронид], хиперозид [кверцетин-3-*O*-галактозид], рутин [кверцетин-3-*O*-рутинозид], изокверцетин [кверцетин-3-*O*-глукозид] и кверцетин [кверцетин-3-*O*-рамонозид]). Посебно подпоглавље је посвећено приказу хемијско-еколошких и фитохемијских истраживања шумске флоре у Србији, уз навођење великог броја релевантних литературних података. У даљем тексту, наводе се опште карактеристике самониклих воћних врста из шумских екосистема и савремени правци фитохемијских истраживања ове групе биљака, чиме кандидаткиња истиче и основне смернице за ову дисертацију, односно научну оправданост свог рада. У петом подпоглављу приказане су опште карактеристике пет испитиваних врста: *Rosa canina* L. (Rosaceae), *Crataegus monogyna* Jacq. (Rosaceae), *Prunus spinosa* L. (Rosaceae), *Cornus mas* L. (Cornaceae) и *Cornus sanguinea* L. (Cornaceae), а у шестом подпоглављу је дат опис три локалитета (Авала, Златарско језеро, Озрен) на којима су вршена истраживања.

У складу са образложеном тематиком дисертације у уводном делу, кандидаткиња је у оквиру следећег поглавља **ПОЛАЗНЕ ХИПОТЕЗЕ - ЦИЉЕВИ РАДА** поставила неколико задатака: идентификација и квантификација шест одабраних фенолних једињења у метанолним екстрактима свежих плодова пет шумских дрвенстих врста самониклог воћа из три природне популације са територије Србије; процена унутарпопулационе и међупопулационе варијабилности испитиваних врста на основу квалитативне и квантитативне анализе садржаја одабраних фенолних једињења у екстрактима плодова; процена сличности/различитости и варијабилности између врста на основу анализе садржаја одабраних фенолних једињења у екстрактима плодова; утврђивање повезаности количине одабраних фенолних једињења у екстрактима плодова са надморском висином, покровношћу вегетације, температуром, количином падавина и инсолацијом на стаништима испитиваних популација и утврђивање варијабилности између врста на основу мање или веће повезаности хемијских параметара са наведеним факторима спољашње средине; утврђивање да ли су и у којој мери одабрана фенолна једињења поуздани показатељи варијабилности популација и тиме значајна за утврђивање и очување хемијског диверзитета, као и биолошког диверзитета у шумским екосистемима.

Поглавље **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** организовано је у пет подпоглавља. У првом подпоглављу је дат је опис истраживаних локалитета и популација испитиваних врста заједно са поступком узорковања плодова и њихове обраде, односно припремања екстраката за анализе. У другом подпоглављу се описује одређивање укупног садржаја фенолних једињења из припремљених екстраката спектрофотометријски - методом по Folin-Ciocalteu. Селекција фенолних једињења која ће бити квалитативно и квантитативно анализирана, као и избор аналитичке методе, хемијско профилисање и квантификовање појединих једињења LC-MS/MS техником (течна хроматографија и масена спектрометрија) су описани у трећем подпоглављу. У четвртном подпоглављу објашњава се метод примењен за описивање станишта, вегетације, бележење орографских и микроклиматских података, а у петом подпоглављу се описују поступци примењени у циљу статистичке обраде података, у којој су коришћене параметарске, непараметарске и мултивариационе статистичке анализе: дескриптивно статистичка анализа (ANOVA са post-ANOVA Bonferroni тестом (параметарски тест) и Kruskal-Wallis (непараметарски

тест)), мултиваријантна анализа података (анализа главних компоненти (PCA) и кластер анализа, корелациона анализа, дискриминантна анализа (DA)), хеометријске анализе (PCA, DA, хијерархијска кластер анализа) и корелациона и регресиона анализа (Пирсонов коефицијент) у програмима Statistica 10, Stata 12, Microsoft Excel 2010, CANOCO 5 и XLSTAT.

У оквиру поглавља **РЕЗУЛТАТИ**, кандидаткиња је добијене резултате груписала у седам подпоглавља. У првом подпоглављу су приказани резултати анализе садржаја укупних фенола у метанолним екстрактима плодова *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* и *C. sanguinea* на свим испитиваним локалитетима. Садржај фенола у плодовима испитиваних биљака, по опадајућем редоследу, је износио 18,82 mg GAE/g свежје тежине (СвТ) код трњине, 10,5 mg GAE/g, 7,04 mg GAE/g код белог глога, 5,7 mg GAE/g код шипурка и 3,68 mg GAE/g код дрена. У другом подпоглављу се приказује садржај сваког испитиваног једињења у плодовима наведених врсте. Плодови дрена су имали највећи садржај неохлорогене киселине, плодови трњине су били најбогатији по садржају квецетин-рутинозида, и квецетин-рамнозида, плодови свиба су имали највећи садржај кверцетин-глукуронида и квецетин-глукозида, а у плодовима глога је био најзаступљенији кверцетин-галактозид. Треће подпоглавље обухвата пет мањих подпоглавља у којима се приказују резултати квалитативних анализа садржаја одабраних фенола (приказани су одговарајући хроматограми) и резултати квантитативних анализа, односно садржај наведених једињења у плодовима у односу на локалитет код сваке испитиване врсте. Четврто подпоглавље се односи на резултате корелационе анализе садржаја одабраних фенолних једињења; у оквиру седам мањих подпоглавља, за сваку од анализираних врста, даје се корелациона анализа садржаја шест фенолних једињења у односу на популацију из које су узимани узорци, као и упоредне корелационе анализе истих параметара код врста из исте фамилије (*R. canina*, *C. monogyna* и *P. spinosa*), односно рода (*C. mas* и *C. sanguinea*). Овим анализама је потврђено да је садржај појединих једињења био статистички значајно корелисан у односу на популацију, као и да је статистичка значајност корелација када је у питању упоредна анализа релативно мала. У петом подпоглављу су приказани резултати анализа варијабилности садржаја одабраних фенолних једињења код испитиваних врста, а оно је подељено на осам мањих подпоглавља, од којих првих пет приказују резултате анализе варијабилности код сваке од врста, а остала три резултате упоредних анализа: између врста из исте фамилије (*R. canina*, *C. monogyna* и *P. spinosa*), истог рода (*C. mas* и *C. sanguinea*), и свих анализираних пет врста. На основу приказаних резултата, уочљива је релативно велика варијабилност у садржају свих испитиваних фенолних једињења у односу на популацију, односно локалитет. Код сваке од испитиваних врста мултиваријантним анализама је одређен допринос појединих једињења општој варијабилности узорка и помоћу кластер анализа је одређена релативна сличност/различитост популација. Упоредне анализе варијабилности су потврдиле да поједина једињења својим садржајем и варијабилношћу доприносе раздвајању врста, као и њиховом груписању на основу неких сличности, а међу њима се посебно издвајају кверцетин-глукозид, кверцетин-галактозид и кверцетин-глукуронид. У шестом подпоглављу су приказани резултати дискриминационе анализе укупног узорка (све врсте, све популације) на основу састава одабраних фенолних једињења. Ова анализа је примењена на три унапред дефинисане групе (три врсте из исте фамилије: *R. canina*, *C. monogyna* и *P. spinosa*; две врсте из истог рода: *C. mas* и *C. sanguinea*; свих пет врста заједно), а на основу утврђивања дистанце између свих узоркованих популација. На основу структуре својстава (садржај фенолних једињења) одређени су односи између група (популација) и дефинисане сличности/различитости између врста. У седмом подпоглављу су приказани резултати анализе основних климатских фактора на

проучаваним локалитетима и одређивање њиховог утицаја на садржај одабраних фенолних једињења. Основни климатски фактори који су бележени током вегетацијске сезоне у којој су формирано плодови су приказани графички, а кроз корелационе анализе садржаја фенолних једињења и појединих срединских фактора на истраживаним локалитетима је показана њихова међусобна повезаност. Садржај фенолних једињења у плодовима је корелисан са средњим вредностима температуре, количине падавина и инсолације за вегетациони период, надморском висином и покровношћу вегетације на стаништима. Кроз анализу главних компоненти приказан је релативни удео појединачних срединских фактора на садржај фенолних једињења код сваке врсте.

У поглављу **ДИСКУСИЈА** кандидаткиња даје приказ испитиваних фенолних једињења, упоређујући резултате свог рада са свим публикованим подацима о њиховом садржају код истих и/или сродних врста, из природних популација или култивисаних. Даљи текст је подељен на неколико мањих подпоглавља. У првом се дискутује укупан садржај фенола код испитиваних врста забележен у овом раду, и пореди са литературним подацима у којима се износе резултати добијени применом исте аналитичке методе. Према доступним подацима, сличне вредности су утврђене и код популација из Шпаније и Португалије, док је на подручју Србије забележена већа варијабилност код неких врста (*C. mas*), док остале још увек нису испитиване. Садржај селектованих фенолних једињења у плодовима сваке од испитиваних врста се дискутује у наредним мањим подпоглављима, уз навођење бројних литературних података који се односе на садржај испитиваних једињења у плодовима истих врста. Обзиром да је у многим студијама утврђено присуство појединих фенолних једињења (а није квантификовано), кандидаткиња се осврће и на доступну литературу која се односи на сродне врсте код којих су доступни квантитативни подаци за испитивана једињења. Генерално, сви добијени резултати су упоредиви са доступним подацима (рађеним истом аналитичком методом), а наше популације по садржају испитиваних једињења показују сличности са неким релативно удаљеним популацијама (Португал). Поједине врсте се, по садржају неких од испитиваних једињења, истичу и далеко превазлазе вредности утврђене код врста које се сматрају богатим природним изворима истих једињења. По високом садржају, од испитиваних једињења се посебно истичу неохлаорогена киселина у плодовима дрена, кверцетин-галактозид и кверцетин-глукозид у плодовима глога и свиба, као и кверцетин-глукуронид у плодовима свиба. У даљем току дискусије, кандидаткиња се усмерава на међусобну корелисаност између испитиваних својстава (садржаја фенолних једињења) код популација са различитих станишта. Генерално, број утврђених значајних корелација је био релативно мали, и потврђено је да се само код врста *C. mas* и *C. sanguinea* може очекивати да количина неког од испитиваних једињења буде индикатор очекиваног садржаја тог једињења на другом (сличном или различитом) станишту. У даљем тексту, дискутује се међупопулациона и унутарпопулациона варијабилност садржаја анализираних фенолних једињења код испитиваних врста. Резултати приказани у овом раду указују на релативно високу варијабилност, и између и унутар популација свих врста. Кроз дискусију се резултати пореде са литературним подацима који се углавном односе на варијабилност између популација и повезују са разликама у генотипу и/или појединим срединским факторима, док у погледу индивидуалне (интрапопулационе) варијабилности за сада нема релевантних података. Корелисаност садржаја селектованих фенолних једињења код испитиваних врста са факторима окружења је дискутована кроз поређења са бројним публикацијама која се односе на иста једињења и њихову варијабилност са променом појединих срединских фактора, пре свега надморске висине. У завршном делу дискусије, кандидаткиња наглашава значај хемијских квалитативних и

квантитативних анализа фенолних једињења у плодовима врста које нису детаљно фитохемијски изучене на природним стаништима, релативно висок садржај појединих једињења у испитиваним популацијама, значај одабраних фенолних једињења као хемотаксономских индикатора, утицај фактора окружења на садржај ових једињења и њихову велику варијабилност у природним популацијама.

У поглављу **ЗАКЉУЧЦИ**, кандидаткиња сумира резултате добијене из докторске дисертације. Изводи закључке везане за присуство и садржај испитиваних фенолних једињења у плодовима пет шумских дрвенастих врста, и истиче да се природне популације ових врста са територије Србије одликују веома високим садржајем одабраних једињења, те се могу сматрати њиховим богатим природним изворима. Састав и количина одабраних једињења се разликују код свих врста, а разлике међу врстама и њиховим популацијама су оцењене као значајне на основу статистичких показатеља. Међусобна корелисаност садржаја испитиваних једињења у узорцима са различитих станишта је специфична за сваку врсту, и на основу тога кандидаткиња закључује да само код врста *C. mas* и *C. sanguinea* може бити индикативан параметар за циљане фитохемијске анализе, а као најпоузданије једињење за корелационе анализе и процену садржаја се истиче неохлорогенска киселина. Такође, у закључцима је наглашено да је варијабилност (интер- и интра-популациона) садржаја свих фенолних једињења релативно висока код испитиваних врста, и наведено које једињење највише доприноси варијабилности код сваке врсте. На основу приказаних анализа, закључује се да су испитивана фенолна једињења добри хемијски маркери за утврђивање разлика између врста, популација и јединки. У погледу сличности између врста, закључује се да су по садржају и варијабилности фенолних једињења најсличније јединке врсте *C. monogyna* и *C. sanguinea*, да релативно велика сличност постоји између јединки *R. canina* и *P. spinosa*, док се од свих највише разликују јединке врсте *C. mas*; у погледу сличности између популација исте врсте, закључује се да је изразитија између популација са Златарског језера и Озрена. Корелисаност садржаја испитиваних фенолних једињења са срединским факторима је била различита код свих врста, на основу чега се закључује да постоје специфичности сваке врсте у погледу адаптираности на услове станишта. Генерално, може се закључити да највећи утицај на садржај анализираних фенолних једињења имају просечна инсолација током вегетацијске сезоне и надморска висина. Најзад, кандидаткиња истиче да приказани резултати говоре у прилог потреби да се природне популације сматрају значајним генетичким и хемијским ресурсима у склопу очувања биодивезитета шумских екосистема.

Поглавље **ЛИТЕРАТУРА** садржи 503 библиографске јединице. Литературни извори су адекватно и на одговарајућим местима цитирани у тексту докторске дисертације.

#### **Радови и конгресна саопштења који чине део докторске дисертације:**

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **M21** Popović Z., Matić R., **Bajić-Ljubičić J.**, Tešević, V., Bojović S. (2018) Geographic variability of selected phenolic compounds in fresh berries of two *Cornus* species. *Trees – Structure and Function* 32(1), 203-214.  
<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00468-017-1624-5>
2. **M22** **Bajić-Ljubičić J.**, Popović Z., Matić R., Bojović S. (2018) Selected phenolic compounds in fruits of wild growing *Cornus mas* L. *Indian Journal of Traditional Knowledge* 17(1), 91-96.  
<http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/43145/1/IJTK%2017%281%29%2091-96.pdf>
3. **M23** Popović Z., **Bajić-Ljubičić J.**, Matić R., Bojović S. (2017) First evidence and quantification of quercetin derivatives in dogberries (*Cornus sanguinea* L.). *Turkish Journal of Biochemistry* 41(4), 513-518.  
<https://www.degruyter.com/view/j/tjb.2017.42.issue-4/tjb-2016-0175/tjb-2016-0175.xml>

### Мишљење и предлог Комисије:

Докторска дисертација Јасне Бајић-Љубичић под насловом: „**Варијабилност садржаја одабраних фенолних једињења у екстрактима плодова пет шумских дрвенастих врста са различитих станишта у Србији**“ представља савремено урађену студију у области хемијске фитоекологије. По свом обиму, садржају, оригиналности резултата, начину њиховог представљања и интерпретацији, уз осврт на обимну и релевантну литературу, поднети текст има све одлике докторске дисертације. Квалитету рада је допринело овладавање савременим методикама у одговарајућим лабораторијама и способност сагледавања комплексних односа у природним популацијама од стране кандидаткиње Јасне Бајић-Љубичић. У дисертацији, кандидаткиња је на примерен начин представила истраживачку област у којој је радила и резултате до којих је дошла; на основу својих резултата и прегледа обимне литературе истакла је значај истраживања у овој области и перспективу даљег рада са врстама које су до сада мало истражене, а према тенденцијама у релевантној литератури све више у фокусу истраживачке пажње.

Комисија сматра да докторска дисертација Јасне Бајић-Љубичић по свом приступу и приказаним резултатима представља значајан допринос у познавању фитохемијског диверзитета и хемијске варијабилности природних популација пет шумских дрвенастих врста са територије Србије. Део добијених резултата је објављен у радовима који су штампани у међународним и истакнутим међународним часописима, што потврђује да је кандидаткиња, у сарадњи са менторима, одабрала актуелну тему истраживања. Надамо се да ће обимни резултати који нису ушли у оквире ове дисертације у наредном периоду бити публиковани и да ће се ова тема развијати и у сродним научним областима.

Томе у прилог говори то што кандидаткиња, поред одговора на постављене непосредне циљеве истраживања, указује на смернице за будућа мултидисциплинарна истраживања. Висок садржај биолошки активних једињења у плодовима испитиваних врста, отвара могућност да се изоловани екстракти, уз сарадњу са различитим експертима, тимовима и институцијама могу испитивати у студијама од фармаколошког и биомедицинског значаја. Кандидаткиња је у току писања дисертације активно учествовала у припреми и публикацији резултата који представљају део докторске дисертације. До сада су објављена три рада у истакнутим међународним часописима, а на једном од њих кандидаткиња је први аутор. Још два рада из области докторске дисертације су у процесу рецензије. Поред успешно урађених задатака предвиђених

циљевима дисертације, активности кандидаткиње Јасне Бајић-Љубичић у припреми радова су потврдиле њену оспособљеност за самосталан научни рад.

На основу свега изложеног, комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати позитиван Извештај и одобри јавну одбрану ове докторске дисертације.

У Београду, 05.04.2018. године.

**КОМИСИЈА:**

Др Зорица Поповић, виши научни сарадник  
Института за биолошка истраживања "Синиша Станковић"

---

Др Рада Матић, виши научни сарадник  
Института за биолошка истраживања "Синиша Станковић"

---

Др Јасмина Шинжар Секулић, ванредни професор  
Биолошки факултет Универзитета у Београду

---

Др Веле Тешевић, ванредни професор  
Хемијски факултет Универзитета у Београду

---

Др Ана Цамић, ванредни професор  
Биолошки факултет Универзитета у Београду

---