

## НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На VI редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 15.05.2020. године, на основу молбе ментора др Сузана Живковић, вишег научног сарадника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду и др Анете Сабовљевић, ванредног професора Биолошког факултета, Универзитета у Београду одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације **Јелене М. Божуновић**, истраживача сарадника на Институту за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институту од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду, под насловом „**Улога секоиридоидних глукозида и бета-глукозидазе у одбрамбеном одговору кичице (*Centaureum erythraea Rafn*) на стрес повређивањем**“, у саставу:

др Сузана Живковић, виши научни сарадник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду; др Анета Сабовљевић, ванредни професор Биолошког факултета, Универзитета у Београду; др Маријана Скорић, научни сарадник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду; др Данијела Мишић, научни саветник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду и др Милорад Вујичић, доцент Биолошког факултета, Универзитета у Београду.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду подноси следећи

### ИЗВЕШТАЈ

#### Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација **Јелене М. Божуновић** (рођене Бољевић) под насловом „**Улога секоиридоидних глукозида и бета-глукозидазе у одбрамбеном одговору кичице (*Centaureum erythraea Rafn*) на стрес повређивањем**“ написана је на укупно 151 страни састоји се од следећих поглавља: **Увод** (стр. 1-24), **Циљеви рада** (стр. 25), **Материјал и методе** (стр. 26-48), **Резултати** (стр. 49-86), **Дискусија** (стр. 87-104), **Закључци** (стр. 105), **Литература** (стр. 106-128) и **Прилог** (стр. 129-132). Поред наведеног, докторска дисертација обухвата и биографију аутора (стр. 133), као и следеће целине: насловну страну на српском и енглеском језику, сажетак дисертације на српском и енглеском језику, листу ментора и чланова комисије, захвалницу, листу скраћеница, садржај, изјаву о ауторству, изјаву о истоветности штампане и електронске верзиједокторског рада и изјаву о коришћењу.

Докторска дисертација садржи укупно 40 слика (11 у поглављу Увод, 3 у поглављу Материјал и методе, 24 у поглављу Резултати и 2 у поглављу Дискусија) и 26 табела

(18 и поглављу Материјал и методе и 8 у поглављу Резултати). Поглавље Литература садржи 301 библиографску јединицу.

## Анализа докторске дисертације

Ова докторска дисертација припада ужој научној области физиологије и молекуларне биологије биљака.

Предмет истраживања докторске дисертације Јелене Божуновић јесте испитивање улоге секоиридоидних глукозида у одговору *Centaurium erythraea* Rafn на стрес изазван механичким повређивањем листова, са посебним освртом на функцију бета-глукозидазе, ензима који катализује први корак катаболизма секоиридоидних глукозида, тј. њихову хидролизу.

Поглавље **УВОД** је подељено на 5 целина. У оквиру првог поглавља приказан је преглед литературних података који су представљали основу за дефинисање предмета ове докторске дисертације. Потпоглавље „Специјализовани метаболити биљака“ обухвата преглед досадашњих сазнања о биосинтези терпена и фенолних једињења, главних специјализованих метаболита биљака из фамилије Gentianaceae. Биосинтеза специјализованих метаболита из групе иридоидних монотерпеноида-секоиридоида је раније описана код врсте *Catharanthus roseus* и обухвата реакције оксидације, редукције, циклизације, гликозилације и метилације. Као продукт ових реакција настаје универзални прекурсор свих биљних секоиридоида-секологанин, од кога се код врсте *C. roseus* даље синтетишу монотерпеноидни индолни алкалоиди. Претпоставља се да врста *Centaurium erythraea* дели са *C. roseus* део биосинтетског пута до секологанина од кога се код кичице биосинтеза наставља до секоиридоидних глукозида сверозида, сверцијамарина и генциопикрина, као и њихових деривата. Овај део биосинтетског пута кичице није потпуно расветљен, као ни кораци катаболизма секоиридоидних глукозида. У другом потпоглављу истакнут је фармаколошки значај специјализованих метаболита кичице и њој сродних биљака, са посебним освртом на антиоксидативну и антимикуробну активност биљних екстраката и њихових главних компоненти. У трећем потпоглављу описана је улога специјализованих метаболита у одговору биљке на абиотички стрес. Механичка повреда биљке као врста абиотичког стреса осим што нарушава интегритет биљног ткива, отвара пут за напад патогена и губитак нутријената. Биљка на механичку повреду реагује појачаном синтезом специјализованих метаболита који су укључени у одбрамбени одговор биљака. Биосинтеза специјализованих метаболита зависи како од експресије гена који кодирају за ензиме укључене у биосинтетски пут, тако и од саме активности датих ензима. Наведени гени су под контролом транскрипционих фактора који представљају део сигналног пута јасмонске киселине. Глукозиловани специјализовани метаболити у које спадају и секоиридоидни глукозиди се након повреде могу активирати под дејством хидролитичких ензима, након чега се ослобађају реактивни и токсични агликонии. Први корак њихове разградње катализују ензими бета-глукозидазе којима је посвећено четврто потпоглавље Увода. Описана је функција ових хидролитичких ензима у

биљкама и указано је на чињеницу да ова група представља такозване „промискуитетне“ ензиме, односно ензиме који имају способност да хидролизују већи број супстрата. У литератури су ретко описани ензими бета-глукозидазе са високом специфичношћу ка специјализованим метаболитима. Код врста реда *Gentianales* *C. roseus* и *Rauvolfia serpentina*, окарактерисани су гени за ензиме бета-глукозидазе који су укључени у хидролизу монотерпеноидних индолних алкалоида. На основу литературних података познато је да секоиридоидни глукозиди подлежу дејству комерцијалних бета-глукозидаза које их ефикасно хидролизују до одговарајућих агликона. Међутим, до данас нису описане биљне бета-глукозидазе карактеристичне за ову групу једињења. Занимљиво је да поједини сојеви микроорганизама показују способност хидролизе секоиридоидних глукозида сопственим бета-глукозидазама. Ботаничке и фармаколошке карактеристике биљне врсте *C. erythraea* Rafn описане су у оквиру петог потпоглавља. Лековита својства кичице се приписују фармаколошки активним специјализованим метаболитима од којих су најзаступљенији монотерпени секоиридоиди (сверозид, сверцијамарин и генциопикрини) и фенолна једињења, укључујући ксантоне, фенолне киселине и флавоноиде.

У оквиру поглавља **ЦИЉЕВИ РАДА** дефинисани су циљеви истраживања докторске дисертације. Главни научни циљ истраживања је расветљавање одбрамбеног одговора врсте *C. erythraea* током механичких повреда листова на нивоу промена у метаболичком путу секоиридоидних глукозида, горких материја са битном улогом у заштити од хербивора и патогена. Метаболичко профилисање иридоида уз паралелну процену нивоа експресије гена биосинтетског пута секоиридоидних глукозида и гена који кодирају за транскрипционе факторе који су део сигналног пута јасмонске киселине пружа нова сазнања о механизмима регулације метаболизма секоиридоидних глукозида у условима стреса. Један од циљева истраживања ове докторске дисертације је изолација и функционална карактеризација гена за ензим бета-глукозидазу кичице који показује високу специфичност ка секоиридоидним глукозидима као супстрату, као и анализа профила експресије овог ензима током одговора биљке на стрес повређивањем како би била утврђена његова улога у овом процесу. Циљ ове докторске дисертације био је такође и оптимизација аналитичких метода за идентификацију и квантификацију секоиридоидних глукозида и њихових агликона, чиме је омогућено метаболичко профилисање ове групе једињења. Поред тога, омогућено је испитивање ефекта хидролизе екстракта кичице на садржај глукозилованих једињења у њима, као и на њихов антиоксидативни и антимикробни потенцијал.

Поглавље **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** садржи укупно 6 потпоглавља од којих су прва три подељена у неколико одељака. У оквиру првог потпоглавља представљене су процедуре за припрему екстракта кичице као и хидролизованог облика екстракта након ензиматске реакције са бета-глукозидазом. Стандардна једињења секоиридоидних глукозида су подвргнута истој процедури хидролизе као и екстракти кичице. Фитохемијска карактеризација метанолних екстракта кичице пре и после ензиматске хидролизе изведена је коришћењем стандардизованих метода за квалитативну (*UHPLC/Orbitrap-MS/MS*) и квантитативну (*UHPLC/DAD/(+/-)HESI-MS/MS*) метаболомичку анализу. Исте методе, уз одређене модификације, коришћене

су за профилисање иридоида у узорцима листова кичице након повређивања. У оквиру овог потпоглавља описане су такође процедуре за одређивање антимикробних (микродилуциона метода) и антиоксидативних (DPPH, ABTS и FRAP тестови) својстава екстраката и стандардних једињења. Поступак *in vivo* трансформације екстраката кичице помоћу микрогљиве *Penicillium funiculosum* такође је описан у оквиру овог потпоглавља. Друго потпоглавље садржи детаљан опис одабира и поступка *in vitro* умножавања генотипа кичице који је коришћен у експериментима механичког повређивања листова и индукције биосинтезе секоиридоида метил јасмонатом. Детаљно су представљене методе за изолацију и проверу квалитета РНК, синтезу комплементарне ДНК, као и протокол за квантитативни PCR. Табеларно су приказане секвенце коришћених прајмера, као и услови за извођење PCR реакција. У оквиру трећег потпоглавља описане су процедуре за изолацију секвенце пуне дужине гена кандидата за бета-глукозидазу кичице, поступак ТА клонирања и клонирања заснованог на рестрикционим ензимима, као и трансформација одабраних сојева *Escherichia coli*. Преглед процедуре за изолацију плазида, индукцију експресије, изолацију и детекцију рекомбинантног протеина такође је описан у оквиру овог потпоглавља. У последњем одељку трећег потпоглавља представљене су процедуре за анализу хидролитичке активности рекомбинантног протеина на комерцијалном супстрату 4-нитрофенил- $\beta$ -D-глукопиранозиду (*pNPG*), стандардима иридоидних и секоиридоидних глукозида, као и наекстракту кичице. Филогенетске анализе аминокиселинских секвенци функционално окарактерисаних бета-глукозидаза, као и 3D моделовање ензима, описане су у оквиру четвртог потпоглавља. Састав хранљивих подлога коришћених за гајење биљака у култури *in vitro* и састав подлога за гајење култура микроорганизама представљени су петом потпоглављу. У оквиру последњег потпоглавља дат је преглед софтверских пакета коришћених за статистичку обраду података добијених у оквиру ове докторске дисертације.

Поглавље **РЕЗУЛТАТИ** организовано је у три потпоглавља од којих је свако подељено у више одељака. У првом потпоглављу су приказани резултати квалитативних и квантитативних фитохемијских анализа екстраката кичице пре и након ензиматске хидролизе бета-глукозидазом. Детектовано је присуство укупно 78 једињења из групе фенолних киселина, флавоноида, ксантона и иридоида. Садржај појединих гликозида флавоноида и посебно секоиридоидних глукозида након ензиматске хидролизе у узорцима значајно опада, док је истовремено садржај неких од агликона ових једињења повећан. У хидролизованим екстрактима детектовани су агликони секоиридоида-генциопикрал и еритроцентаурин, као и два неидентификована агликона која су обележена као једињења М5 и М6. Повећана антиоксидативна активност екстраката кичице и секоиридоида након ензиматске хидролизе забележена је када су узорци анализирани ABTS методом. Антимикробна активност против осам фунгалних и осам бактеријских сојева се није мењала значајно након ензиматске хидролизе екстраката и стандарда секоиридоидних глукозида. *In vivo* биотрансформација екстраката кичице постигнута је у течној култури *P. funiculosum*, при чему је хидролиза секоиридоидних глукозида извршена посредством бета-глукозидаза микрогљиве. Друго потпоглавље даје упоредни приказ анализе садржаја

иридоидних једињења и експресије одабраних гена биосинтетског пута иридоида након механичког повређивања листова кичице, као и након елицитације метил јасмонатом. Механичка повреда ткива иницира акумулацију свих мерених иридоидних једињења како у повређеним, тако и у целим (интактним) листовима исте биљке, а садржај укупних иридоида достиже максималне вредности 96 сати након повреде, и то у целим листовима. Ниво експресије девет гена укључених у биосинтезу секоиридоида расте након механичке повреде и у целим и у повређеним листовима, а најизраженији пораст забележен је за ген секологанин синтазу. Повреда утиче на промену експресије три од шест анализираних гена који кодирају за транскрипционе факторе, а који су део сигналног пута јасмонске киселине, при чему је највећа промена забележена у случају експресије *CeBIS1*. Садржај иридоидних једињења такође расте и након третмана биљака метил јасмонатом, при чему је забележен и пораст нивоа експресије одабраних биосинтетских гена и *CeBIS1* гена. Насупрот овим резултатима, експресија гена за ензим бета-глукозидазу у свим мереним временским интервалима након механичке повреде опада у односу на контролне биљке. У оквиру трећег потпоглавља описани су услови под којима је постигнута хетеролога експресија ензима бета-глукозидаза кичице у организму домаћину (*E. coli*), као и идентификација ензима имунодетекцијом са *anti-His* антителима. Функција изолованих ензима потврђена је коришћењем комерцијалног супстрата 4-нитрофенил- $\beta$ -D-глукопиранозида, екстраката кичице и стандардних једињења из групе иридоида, секоиридоида и фенолних једињења. Резултати су показали да оба изолована ензима (*CeBGLU1* и *CeBGLU2*) ефикасно хидролизују комерцијалне супstrate и секоиридоидне глукозиде, при чему се афинитет ка супстратима две варијанте ензима донекле разликује. Ензим *CeBGLU1* показао је већу специфичност ка секоиридоидним глукозидима од *CeBGLU2*. На основу поређења аминокиселинских секвенци окарактерисаних биљних бета-глукозидаза и хетерологих ензима *CeBGLU1* и *CeBGLU2* конструисано је филогенетско стабло на основу кога се секвенце ензима *CeBGLU1* и *CeBGLU2* јасно групишу са аминокиселинским секвенцама бета-глукозидаза врста *Rauvolfia serpentina*, *Rauvolfia verticillata* и *C. roseus*. Филогенетска анализа је показала највећи степен сличности изолованих ензима са раукафрицин- $O$ - $\beta$ -D-глукозидазом врсте *R. serpentina*. Конструисани су и 3D модели ензима *CeBGLU1* и *CeBGLU2* на основу хомологије аминокиселинских секвенци са раније окарактерисаним бета-глукозидазама, при чему је јасно издвојено активно место ензима.

У поглављу **ДИСКУСИЈА** кандидат уз коришћење литературних извора разматра резултате добијене у оквиру ове дисертације. Кандидат дискутује предности извођења експеримената у контролисаним условима културе *in vitro*, где је уз коришћење униформног генетичког материјала могуће искључити ефекат фактора спољашње средине на варирање фенотипских одлика, у које свакако спада и садржај специјализованих метаболита. У оквиру другог потпоглавља посвећена је посебна пажња тумачењу резултата фитохемијске анализе имајући у виду предности и ограничења доступних аналитичких метода за детекцију агликона секоиридоидних глукозида. Добијени резултати о биоактивности екстраката кичице пре и после ензиматске хидролизе су анализирани узевши у обзир садржај њихових главних

компоненти- секоиридоидних глукозида. Уз осврт на податке из литературе релевантне за ово истраживање протумачени су оригинални резултати који указују на улогу ензима бета-глукозидазе и секоиридоидних глукозида у одбрамбеном одговору кичице на стрес изазван механичким повређивањем. Кандидат објашњава пораст количине секоиридоида након повређивања листова кичице, пружајући доказе о повећању нивоа експресије гена биосинтетског пута секоиридоида и гена који кодирају за транскрипционе факторе укључене у сигнални пут јасмонске киселине, уз истовремено смањење нивоа експресије гена за бета-глукозидазу. Поред тога, наглашено је да је појачана акумулација секоиридоида у биљкама резултат како повишене метаболичке активности у оквиру биосинтетског пута иридоида, тако и сниженог катаболизма ове групе једињења. Посебну пажњу кандидат посвећује значају добијених резултата који битно доприносе разумевању улоге бета-глукозидаза у метаболизму секоиридоида. У оквиру ове докторске дисертације по први пут су функционално окарактерисане бета-глукозидазе са високом специфичношћу ка секоиридоидним глукозидима као супстратима. То је додатно потврдило значај ових хидролитичких ензима у одбрамбеном одговору кичице на стрес повређивањем уз претпоставку да су бета-глукозидазе саставни део одбрамбених механизма биљке од других врста абиотичког и биотичког стреса. У дискусији је посебно наглашен применљиви аспект истраживања и указано је на могућност примене добијених резултата у метаболичком инжењерингу за потребе повећане производње ових важних биоактивних једињења у хетерологим и хомологим домаћинима.

У оквиру поглавља **ЗАКЉУЧЦИ** је прецизно и јасно изнет преглед најзначајнијих закључака изведених на основу добијених резултата који су у складу са постављеним циљевима докторске дисертације. Закључци су изложени кроз десет ставки. На основу хемијске анализе екстраката и стандардних једињења секоиридоидних глукозида установљено је да ова једињења подлежу ензиматској хидролизи у реакцији са бета-глукозидазом, при чему се особађају нестабилни агликони. Гљива *P. funiculosum* посредством сопствених бета-глукозидаза ефикасно метаболише сублеталне концентрације секоиридоидних глукозида кичице. На основу приложених резултата закључено је да ензиматска хидролиза бета-глукозидазом умерено побољшава антиоксидативни потенцијал, али не утиче значајно на антимикробни потенцијал екстраката кичице и секоиридоидних глукозида. Истакнуто је да механичко повређивање листова кичице индукује акумулацију секоиридоида након 96 сати што је резултат повећане експресије већине анализираних биосинтетских гена (*CeGPPS*, *CeGES*, *CeG8O*, *Ce8HGO*, *CeIS2*, *CeIO*, *Ce7DLGT*, *Ce7DLH2* и *CeSLS*), као и снижене експресије гена за бета-глукозидазу која катализује први корак њихове разградње. Претпостављено је да ензим секологанин синтаза (*CeSLS*) има кључну улогу у регулацији метаболичког флукса кроз биосинтетски пут секоиридоида. Гени биосинтетског пута секоиридоида су током одговора листова на стрес механичким повређивањем координисано експримирани са геном за транскрипциони фактор *CeBIS1*, што указује на транскрипциону регулацију биосинтезе секоиридоида под утицајем сигналног пута јасмонске киселине. Акумулација секоиридоидних глукозида у листовима кичице може бити подстакнута како повређивањем листова кичице, тако и

елицитацијом метил јасмонатом, што се може искористити у циљу ефикасније производње ових значајних једињења. Две изоформе ензима бета-глукозидазе (*CeBGLU1* и *CeBGLU2*) са високом специфичношћу ка секоиридоидним глукозидима као супстрату изоловане су из кичице. Хетерологом експресијом у организму домаћину, изолацијом рекомбинантних протеина и ензиматским тестовима потврђена је хидролитичка активност ових ензима. На основу приложених резултата закључено је да би, уз примену метаболичког инжењеринга, стишавање гена за бета-глукозидазе или појачавање експресије транскрипционих фактора и биосинтетских гена могли бити неки од ефикасних механизма за повећану и одрживу производњу секоиридоидних глукозида из обновљивих извора.

Поглавље **ЛИТЕРАТУРА** садржи 301 библиографску јединицу из међународних и домаћих извора. Наведени извори покривају све области овог истраживања и на адекватан начин су наведени у тексту докторске дисертације.

Поглавље **ПРИЛОГ** садржи табеле и слике са додатним резултатима добијеним током истраживања у оквиру докторске дисертације.

## **Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације**

### **Б1. Радови у часописима међународног значаја**

1. **Božunović, J.**, Živković, S., Gašić, U., Glamočlija, J., Ćirić, A., Matekalo, D., Šiler, B., Soković, M., Tešić, Ž., Mišić, D. (2018). *In vitro* and *in vivo* transformations of *Centaurium erythraea* secoiridoid glucosides alternate their antioxidant and antimicrobial capacity. *Industrial Crops & Products*, 111: 705-721. **M21a**  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669017307999>
2. Matekalo, D., Skorić, M., Nikolić, T., Novaković, L., Lukić, M., **Božunović, J.**, Aničić, N., Filipović, B., Mišić, D. (2018). Organ-specific and genotype-dependent constitutive biosynthesis of secoiridoid glucosides in *Centaurium erythraea* Rafn, and its elicitation with methyl jasmonate. *Phytochemistry*, 155: 69-82. **M21**  
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.07.015>
3. **Božunović, J.**, Skorić, M., Matekalo, D., Živković, S., Dragičević, M., Aničić, N., Filipović, B., Banjanac, T., Šiler, B., Mišić, D. (2019). Secoiridoids Metabolism Response to Wounding in Common Centaury (*Centaurium erythraea* Rafn) Leaves. *Plants*, 8(12), p.589. **M21**  
<https://www.mdpi.com/2223-7747/8/12/589>

### **Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја**

1. **Boljević, J.**, Živković, S., Glamočlija, J., Božić, D., Aničić, N., Šiler, B., Soković, M., Mišić, D. (2015). Hydrolysis of secoiridoid glycosides from *Centaurium erythraea* Rafn. increases their antioxidative potential. *In: Uzelac, B. editor. Abstracts of the 2<sup>nd</sup> International Conference on Plant Biology (21<sup>st</sup> Symposium of the Serbian Plant Physiology Society) & COST Action FA1106 Qualityfruit Workshop, June 17-20; Petnica, Serbia. Belgrade (Serbia): Serbian Plant Physiology Society; 70. **M34***

2. **Božunović, J.**, Živković, S., Gašić, U., Glamočlija, J., Ćirić, A., Matekalo, D., Šiler, B., Soković, M., Tešić, Ž., Mišić, D. (2018). *In vitro* and *in vivo* transformation of *Centaureum erythraea* Rafn extracts and resulting bioactivities. In: Abstract Book for the Plant Biology Europe Conference in Copenhagen, p. 329. ISBN 978-87-996274-1-7 **M34**
3. **Božunović, J.**, Skorić, M., Matekalo, D., Živković, S., Aničić, N., Nestorović Živković, J., Mišić, D. (2018). Wounding alters gene expression of secoiridoid glucosides metabolic pathway in leaves of common centaury. Joint Meeting of 3<sup>rd</sup> International Conference on Plant Biology, 22<sup>nd</sup> Symposium of the Serbian Plant Physiology Society. Belgrade, Serbia. Book of abstracts p. 66. **M34**

### Б3. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

1. **Božunović, J.**, Skorić, M., Matekalo, D., Aničić, N., Živković, S., Milutinović, M., Mišić, D. (2018). Biosinteza sekoiridoidnih glikozida tokom odbrambenog odgovora listova kičice (*Centaureum erythraea* Rafn) na stres povređivanjem. Drugi kongres biologa Srbije. Kladovo, Srbija. Knjiga sažetaka, 51. ISBN 978-86-81413-08-1 **M64**

### Провера оригиналности докторске дисертације

Провера оригиналности докторске дисертације **Јелене М. Божуновић** „Улога секоиридоидних глукозида и бета-глукозидазе у одбрамбеном одговору кичице (*Centaureum erythraea* Rafn) на стрес повређивањем” је на основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду извршена помоћу програма IThenticate. Утврђено подударање текста износи **1%**, при чему је наведени степен сличности последица личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, као и тзв. општих места и података, што је у складу са чланом 9. Правилника. На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, Комисија сматра да извештај указује на оригиналност дисертације.

### Мишљење и предлог Комисије

На основу изложене анализе докторске дисертације кандидата **Јелене М. Божуновић** комисија сматра да ова дисертација представља оригиналан научни рад који је у сагласности са постављеним циљевима истраживања наведеним у пријави теме и да испуњава све критеријуме прописане стандардима Универзитета у Београду. Кандидаткиња је добијене резултате адекватно приказала и критички дискутовала применом анализом релевантних литературних података. Резултати ове докторске дисертације дају важан допринос разумевању метаболизма фармаколошки значајних специјализованих метаболита секоиридоидних глукозида у листовима *Centaureum erythraea* Rafn током одговора биљке на механичко повређивање. Садржај ових важних биоактивних једињења који у самој биљци играју улогу детерената за хербиворе и патогене зависи од координисане регулације биосинтезе и катаболизма секоиридоида,



при чему њихова разградња започиње реакцијом хидролизе посредством ензима бета-глукозидазе. У оквиру ове дисертације је по први пут потврђена функција биљних бета-глукозидаза које показују специфичност ка секоиридоидним глукозидима као супстрату. Добијени резултати имају вишеструки значај, како у фундаменталном, тако и у апликативном погледу. Резултати се могу искористити у циљу веће ефикасности производње ових значајних биоактивних једињења и њихових деривата.

На основу свега наведеног, Комисија предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и одобри кандидату **Јелени М. Божуновић** јавну одбрану докторске дисертације под насловом **„Улога секоиридоидних глукозида и бета-глукозидазе у одбрамбеном одговору кичице (*Centaureum erythraea* Rafn) на стрес повређивањем“**.

У Београду, 18.05.2020.

## КОМИСИЈА

---

др Сузана Живковић, виши научни сарадник  
Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“  
Институт од националног значаја за Републику Србију  
Универзитет у Београду

---

др Анета Сабовљевић, ванредни професор  
Биолошки факултет  
Универзитет у Београду

---

др Маријана Скорић, научни сарадник  
Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“  
Институт од националног значаја за Републику Србију  
Универзитет у Београду

---

др Данијела Мишић, научни саветник  
Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“  
Институт од националног значаја за Републику Србију  
Универзитет у Београду

---

др Милорад Вујичић, доцент  
Биолошки факултет  
Универзитет у Београду