

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ШУМАРСКИ ФАКУЛТЕТ
Број захтева: 03- 6105 /1
22.07.2014.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на извештај о урађеној докторској дисертацији

Молимо да сходно члану 46. став 5. тачка 4. Статута Универзитета у Београду /»Гласник Универзитета“ бр. 131/06/,), дате сагласност на извештај о урађеној докторској дисертацији кандидата

МАРИЈА МАРКОВИЋ

пријавила је докторску дисертацију под називом:

**„Размножавање неких угрожених врста каранфила (*Dianthus L.*)
методом микропропагације“**

ИЗ НАУЧНЕ ОБЛАСТИ: ШУМАРСТВО

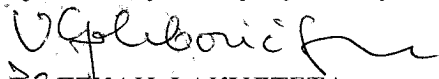
Универзитет је дана од 15.10.2008. године, својим актом бр. 01 бр.612-31/08 од 15.10.2008./ дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

**„Размножавање неких угрожених врста каранфила (*Dianthus L.*)
методом микропропагације“.**

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата Марије Марковић образована је на седници одржаној 29.5.2014. год., одлуком Наставно-научног већа факултета под бр.01-4142/1 од 29.5.2014. у саставу:

Име и презиме члана комисије	звање	научна област
1. Др Михаило Грбић, редовни професор Универзитета у Београду–Шумарског факултета, Шумарство		
2. Др Матилда Ђукић, редовни професор Универзитета у Београду–Шумарског факултета, Шумарство		
3. Др Јелена Томићевић-Дубљевић, ванредни професор Универзитета у Београду–Шумарског факултета, Шумарство		
4. Др Драгана Стојичић, ванредни професор Универзитета у Нишу –Природно-математичког факултета		
5. Др Данијела Ђунисијевић-Бојовић, доцент, Универзитета у Београду–Шумарског факултета; Шумарство		

Наставно-научно веће факултета прихватило је извештај Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној дана **16.07.2014.** године.


ДЕКАН ФАКУЛТЕТА
Др Милан Медаревић, ред.проф.

Прилог: 1. Извештај комисије са предлогом
2. Акт надлежног тела факултета о израђеној докторској дисертацији



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ШУМАРСКИ ФАКУЛТЕТ
Број: 01-5966/1
Датум: 16.07.2014.
Б Е О Г Р А Д

На основу члана 154. Статута Факултета, а на основу предлога Већа одсека за пејзажну архитектуру и хортикултуру бр. 3438/6 од 11.06.2014. год. и Извештаја Комисије бр. 3438/4 од 04.06.2014. год, Наставно-научно веће Универзитета у Београду-Шумарског факултета, на седници одржаној 16.07.2014. год, доноси

О Д Л У К У

Усваја се израђена докторска дисертације **мр Марије Марковић** под насловом: **„Размножавање неких угрожених врста каранфила (*Dianthus L.*) методом микропропагације“.**

Образује се Комисија за јавну одбрану, у саставу:

1. Др Михаило Грбић, редовни професор Универзитета у Београду-Шумарског факултета,
2. Др Матилда Ђукић, редовни професор Универзитета у Београду-Шумарског факултета,
3. Др Јелена Томићевић-Дубљевић, ванредни професор Универзитета у Београду-Шумарског факултета,
4. Др Драгана Стојичић, ванредни професор Универзитета у Нишу-Природно-математичког факултета,
5. Др Данијела Ђунисијевић-Бојовић, доцент Универзитета у Београду- Шумарског факултета.

Образложење

Универзитет у Београду је својим актом 01 број: 612-31/68/08 од 15.10.2008. год. дао сагласност на предлог теме докторске дисертације мр Марије Марковић под називом: „Размножавање неких угрожених врста каранфила (*Dianthus L.*) методом микропропагације“.

Кандидат је објавио следеће научне радове:

- Марковић, М., Поповић, М., Вилотић, Д. (2013): Micropropagation of *Dianthus deltooides* L. through shoot tip and nodal cuttings culture. Archives of Biological Sciences, 65(1): 17-22. ISSN: 1821-4339, DOI:10.2298/ABS1301017M.
- Марковић, М., Вилотић, Д., Поповић, М. (2013): Propagation of *Paulownia elongata* S. Z. HU by axillary shoots. Propagation of Ornamental Plants 13(2): 73-77. ISSN 1311-9109.
- Марковић, М., Грбић, М., Ђукић, М. (2013): Micropropagation of the Endangered and Decorative Species *Dianthus serotinus* Waldst. et Kit. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 41(2): 1-8. Print ISSN 0255-965X; Electronic 1842-4309

Дана 05.05.2014. године, мр Марије Марковић је предала Факултету израђену докторску дисертацију. Комисија за оцену докторске дисертације предложила је ННВ-у да се предметна дисертација прихвати и одобри одбрана, те је одлучено као у диспозитиву ове одлуке.

Одлуку доставити: Универзитету у Београду–Већу научних области, члановима Комисије, именованој, Служби за наставу и студентска питања, декану, писарници.

ПРЕДСЕДНИК ВЕЋА
Проф. др Милан Медаревић

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ШУМАРСКИ ФАКУЛТЕТ
Број: 01-7911/1
Датум: 26.09.2013.
Б Е О Г Р А Д

На основу члана 154. Статута Универзитета у Београду-Шумарског факултета, а на основу предлога Већа одсека за пејзажну архитектуру и хортикултуру бр. 01-7689/3 од 16.09.2013. год, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 26.09.2013. год. Доноси

О Д Л У К У

Одобрава се **мр Марији Марковић** продужење рока за израду и одбрану докторске дисертације за две школске године.

Одлуку доставити: именованој, Служби за наставу и студентска питања, декану, писарници.

Председник
Наставно-научног већа
Проф. др МИЛАН МЕДАРЕВИЋ

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ШУМАРСКИ ФАКУЛТЕТ

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ШУМАРСКОГ ФАКУЛТЕТА

Предмет: Извештај Комисије о оцени израђене докторске дисертације
мр **Марије Марковић**

Одлуком Наставно-научног већа Шумарског факултета у Београду бр. 01-4142/1, од 29.05.2014. године, одређена је Комисија за оцену израђене докторске дисертације мр Марије Марковић, асистенткиње Шумарског факултета, под насловом „Размножавање неких угрожених врста каранфила (*Dianthus L.*) методом микропропагације“ у саставу:

1. Др Михаило Грбић, редовни професор Универзитета у Београду – Шумарског факултета
2. Др Матилда Ђукић, редовни професор Универзитета у Београду – Шумарског факултета
3. Др Јелена Томићевић-Дубљевић, ванредни професор Универзитета у Београду – Шумарског факултета
4. Др Драгана Стојичић, ванредни професор Универзитета у Нишу - Природно-математичког факултета
5. Др Данијела Ђунисијевић-Бојовић, доцент Универзитета у Београду – Шумарског факултета

Чланови Комисије су прегледали достављену дисертацију, оценили њену научну вредност као и допринос науци и подносе Наставно – научном већу Шумарског факултета у Београду следећи извештај.

ИЗВЕШТАЈ

А. ПРИКАЗ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација мр Марије Марковић, под насловом: „Размножавање неких угрожених врста каранфила (*Dianthus* L.) методом микропропагације“ садржи 287 страница текста. Дисертација је подељена у 7 поглавља, која садрже 149 табела, 9 графика и 33 слике. Списак коришћене и цитиране литературе износи 312 наслова страних и домаћих аутора. На почетку дисертације наведени су: чланови комисије; основна документациона информација са изводом и кључним речима (на српском и енглеском језику), садржај рада и на крају, биографски подаци кандидата.

Докторска дисертација је изложена кроз следећа поглавља: 1. Увод (1 - 61 стр.); 2. Циљ истраживања (62 стр.); 3. Материјал и методе рада (63 - 77 стр.); 4. Резултати (78 - 233 стр.); 5. Дискусија (234 – 253 стр.); 6. Закључци (254 - 258 стр.) и 7. Литература (259 - 287 стр.).

Поглавља у дисертацији чине логички повезану целину. Рад је урађен у складу са прихваћеном пријавом теме докторске дисертације и према Упутству за формирање репозиторијума докторске дисертације.

Б. АНАЛИЗА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

1. Увод (1-61)

У поглављу ***Увод***, указано је на проблем заштите угрожених биљних врста, посматрано на глобалном нивоу, са посебним освртом на стање у Србији. Дат је приказ истраживања која се баве размножавањем угрожених таксона у циљу обезбеђивања биљног материјала за њихову *ex situ* и *in situ* заштиту. Детаљно је описана метода

микропропагације, као поступак размножавања који има значајну примену за брзо и ефикасно умножавање угрожених таксона. Приказане су фазе микропропагације, услови извођења, као и фактори који утичу на успешност самог поступка. Дат је и приказ основних карактеристика угрожених таксона: *Dianthus serotinus* Waldst. et Kit., *Dianthus pinifolius* Sibth. et Sm., *Dianthus giganteiformis* Borbas subsp. *kladovanus* (Degen) Soo који су размножени методом микропропагације током спроведених експеримената. Такође, је дат и опширан преглед досадашњих истраживања која се баве микропропагацијом врста из рода *Dianthus*. Посебно су приказане основе и принципи реинтродукције угрожених врста на природна станишта, како би се дефинисале смернице за даље коришћење биљака добијених током ових истраживања.

2. Циљ истраживања (стр. 62)

Основни циљеви ове докторске дисертације су:

- успостављање стерилне *in vitro* културе *D. serotinus*, *D. pinifolius* и *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus*, коришћењем семена као полазног материјала који омогућава очување генетске варијабилности популације;
- испитивање ефекта различитих концентрација фитохормона ВАР (6-бензил-аминопурин) и NAA (α -нафтил-сирћетна киселина), типа експланта, концентрације MS (Murashige & Skoog, 1962) соли и различите рН вредности хранљиве подлоге на развој култура испитиваних таксона у фази мултипликације;
- утврђивање могућности коришћења глукозе, сахарозе и фруктозе као извора угљеника у микропропагацији истраживаних таксона, као и ефекат шећерног алкохола сорбитола на развој култура *D. serotinus*;
- оптимизација услова ожиљавања *in vitro* сва три испитивана таксона - утицај концентрације NAA у подлози и утицај типа експланта и концентрације MS соли на ризогенезу;
- испитивање могућности ожиљавања испитиваних таксона на подлогама без агара,

истовремено са аклиматизацијом;

- аклиматизација ожиљених *in vitro* биљака истраживаних таксона на природним супстратима.

Сврха истраживања ове докторске дисертације је утврђивање оптималних услова микропропагације три угрожена таксона каранфила и одређивање комплетног и детаљног протокола за њихово размножавање у условима *in vitro*, као и поступка аклиматизације добијених биљака.

3. Материјал и метод рада (63 - 77)

У овом поглављу кандидаткиња је детаљно представила примењене методе истраживања, обухватајући све фазе од успостављања стерилне *in vitro* културе до добијања аклиматизованих биљака. Поглавље *Материјал и метод рада* подељено је у 7 потпоглавља у којима су јасно описане примењене процедуре и методе истраживања.

Приказани су локалитети и начин сакупљања биљног материјала. Описан је поступак успостављања стерилне културе *in vitro*. Приказан је састав основне, MS хранљиве подлоге која је за потребе експеримената модификована. У фази мултипликације, код сва три испитана таксона, коришћена су три типа експаната: једнонодусне резнице, терминални пупољци и вршне резнице. Том приликом, испитан је утицај подлога са редукованом концентрацијом MS соли, као и утицај различитих концентрација ауксина (NAA) и цитокинина (BAP) на развој експаната. Поред тога, експерименти су укључили и испитивање дејства различите рН вредности хранљивих подлога са пуном концентрацијом минералних соли (MS) и са редукованом концентрацијом минералних соли (1/2MS) на развој култура у фази мултипликације. У истој фази, спроведени су и експерименти са додавањем различитих шећера (сахарозе, глукозе и фруктозе) у концентрацијама

10 - 70 gL⁻¹ у хранљиве подлоге. Код врсте *D. serotinus* испитан је и ефекат различитих концентрација сорбитола на развој експланта у фази умножавања изданака.

У фази ожиљавања *in vitro*, код сва три испитана таксона, коришћена су четири типа експланата: нодусне резнице, терминални пупољци, вршне резнице са 1 - 3 нодуса и вршне резнице са 4 - 6 нодуса. Експерименти су обухватили утицај концентрације минералних соли у подлози (1/2MS и MS) и различитих концентрација NAA (0,27, 0,54 и 2,68 μM) на ризогенезу. Сви експерименти су спроведени на подлогама са агаром, али и на подлогама које су уместо агара садржале песак или перлит као потпорну компоненту, како би се на тај начин обезбедила постепена аклиматизација ожиљених биљака.

Биљке добијене *in vitro* су аклиматизоване коришћењем три различите мешавине супстата: тресет и песак (1 : 1), тресет и песак (4 : 1) и тресет, песак, баштенска земља и прегорели стајњак (2 : 2 : 2 : 1), (запремински однос компоненти). Поред тога, истражен је и утицај типа експланта из ког су се биљке развиле (пореклом од терминалних пупољака, нодусних резница, вршних резница са 1-3 нодуса и вршних резница са 4-6 нодуса) на њихову аклиматизацију.

Током експеримената мерен је већи број параметара. У фази мултипликације утврђен је проценат регенерације правилно развијених изданака, а затим је евидентиран број изданака по експланту, број нодуса, дужина изданака, дужина интернодија, као и учесталост појаве некроза, витрификација и других непожељних промена уколико их је било. У фази ожиљавања на подлогама са агаром евидентиран је број коренова, а мерена је дужина најдужег корена. У фази ожиљавања испитаних таксона на подлогама без агара одређен је проценат ожиљених биљака, а у фази аклиматизације евидентиран је проценат аклиматизованих биљака. Добијени подаци су статистички обрађени коришћењем статистичког софтвера STATGRAPHICS Centurion XVI.I. Значајност разлика између средњих вредности утврђена је анализом варијансе (ANOVA), са нивоом значајности $p < 0,05$, као и методом најмање значајне разлике (LSD). Током статистичке анализе, за резултате приказане у процентима извршена је arcsin трансформација података чиме се повећава нормалност добијене расподеле. У фази мултипликације, током ожиљавања на подлогама са агаром и у фази

аклиматизације, за податке приказане у процентима, коришћена је мултиноминална логистичка регресија. За утврђивање утицаја састава подлоге и типа експланта на мерене параметре (број изданака, број нодуса) у фази мултипликације коришћена је вишефакторска анализа варијансе (multifactor ANOVA). Експерименти су обављани у Лабораторији за културу ткива Шумарског факултета у Београду.

4. Резултати истраживања (78 - 233)

Резултати истраживања представљени су кроз четири целине:

4.1. Успостављање стерилне in vitro културе

Овде је приказана успешност примењеног метода стерилизације иницијалног биљног материјала - семена. Евидентиран је проценат контаминација и клијавост семена у условима *in vitro*.

4.2. Фаза мултипликације испитаних таксона: D. serotinus, D. pinifolius и D. giganteiformis ssp. kladovanus

Ово потпоглавље обухвата три целине. Прву целину чине резултати експеримената којима се утврђује утицај баланса хормона - ВАР и NAA на развој култура у фази мултипликације. Другу целину представљају резултати испитивања утицаја рН вредности хранљивих подлога на развој изданака наведених таксона. Трећа целина обухвата резултате експеримената везаних за утицај врсте и концентрације шећера у медијумима на развој култура у фази мултипликације. Утврђена је виталност култура код свих наведених експеримената, 25 дана после постављања експланата, и евидентирани су следећи параметри: број изданака, дужина изданака, број нодуса,

дужина интернодија.

Како су експерименти, поред наведених, укључивали више фактора (концентрација MS соли, тип експланта), извршена је вишефакторска анализа варијансе у циљу утврђивања значајности дејства сваког посматраног фактора, као и евентуалне појаве интеракције између њих. Потпоглавље је документовано табелама (табеле 6 - 115), графиконима (графикони 1 - 9) и сликама (слике 12 - 16).

4.3. Фаза ожиљавања испитаних таксона

У овом делу приказани су резултати експеримената везаних за ожиљавање 4 типа експланата на подлогама са агаром и на подлогама у којима је уместо агара коришћен песак или перлит као потпорна компонента. У свим експериментима коришћене су хранљиве подлоге са MS и 1/2MS концентрацијом соли у које је додата NAA (0,27, 0,54, 2,68 μM). Квалитет ожиљавања на подлогама са агаром је утврђиван мерењем броја коренова и дужином најдужег корена. Потпоглавље је документовано табелама (табеле 116 - 143) и сликама (слике 17 - 25).

4.4. Фаза аклиматизације испитаних таксона

Овде су приказани резултати утицаја састава супстрата на аклиматизацију добијених биљака. Анализиран је и утицај порекла ожиљених биљака, односно утицај типа експланта из ког се развила *in vitro* биљка. Такође, мултиноминалном логистичком регресијом је утврђена значајност утицаја поменутих фактора (супстрат, тип експланта) на аклиматизацију, као и да ли постоји интеракција њиховог утицаја. Ово потпоглавље је документовано табелама (табеле 144 - 149) и сликама (слике 26 - 33).

5. Дискусија резултата истраживања (234 - 253)

У овом поглављу, дискусија резултата је представљена детаљном анализом добијених података. Користећи савремене литературне изворе кандидаткиња на веома садржајан и јасан начин дискутује о карактеру својих резултата, поредећи их са резултатима многобројних иностраних и домаћих аутора.

Анализирајући клијавост семена у условима *in vitro*, у обзир је узет и утицај NaOCl, средства којим је извршена површинска стерилизација семена. У фази мултипликације, разматран је утицај фактора који су могли да изазову витрификацију. Међу њима је анализирано дејство различитих концентрација BAP и NAA, концентрације минералних соли у подлози и утицај типа експланата. Показало се да сувише висока рН вредност подлоге може довести до појаве витрификованих експланата. Осим тога, развој изданака сва три испитана таксона је посматран зависно од концентрације хормона у подлогама за умножавање. Ефекат рН вредности медијума на развој култура је доведен у везу са доступношћу и интензитетом усвајања јона који се налазе у њему. Анализиран је утицај врсте и концентрације шећера на развој култура и коментарисана је појава витрификације на подлогама са фруктозом. Разматран је ефекат додавања сорбитола у подлоге са фруктозом.

Анализиране су разлике у ожиљавању између испитаних таксона, разматран је утицај концентрације NAA, MS соли и типа експланта на проценат ожиљавања као и број коренова, а добијени резултати су упоређени са истраживањима на другим врстама. Поред тога, анализирани су узроци ниског процента ожиљавања на подлогама без агара, и дати су предлози за додатна истраживања којима би се добили бољи резултати. Резултати утицаја типа супстрата на аклиматизацију добијених *in vitro* биљака је доведен у везу са резултатима сличних истраживања. На крају су установљени даљи кораци примене резултата спроведних истраживања у планирању стратегије реинтродукције истражених таксона - *D. serotinus*, *D. pinifolius* и *D. giganteiformis ssp. kladovanus*.

6. Закључци (254 - 258)

Закључци обављених истраживања приказани су концизно и јасно по логичком редоследу и значају.

Основни циљ предузетих истраживања, изналажење оптималних услова микропропагације уговорених таксона *D. serotinus*, *D. pinifolius* и *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus*, је постигнут. Кандидаткиња је добила високу клијавост семена све три врсте успостављањем стерилне културе *in vitro* (88% - *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus*, 92% - *D. pinifolius* и 96% - *D. serotinus*). Успешна стерилизација је постигнута коришћењем 4% раствора NaOCl током 20 минута, који је као јако оксидативно средство уједно утицао и на повећање клијавости.

Мр Марија Марковић даље закључује, на основу резултата другог дела истраживања да је најуспешнија регенерација изданака била на подлогама са ниском концентрацијом хормона: 0,44 μM ВАР и 0,54 μM NAA, разликујући се зависно од типа експланта и концентрације MS соли у подлози. Врста *D. serotinus* је подложна витрификацији, али се она може успешно редуковати коришћењем ниских концентрација фитохормона (0,44 μM ВАР и 0,54 μM NAA), додавањем MS соли у упола мањој концентрацији (1/2MS подлога) и гајењем вршних резница уместо терминалних пупољака и нодусних резница.

оптимална рН вредност за *D. pinifolius* износи 5,8, а *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus* се успешно може гајити на подлогама чија је рН вредност 5,8 или 6,3. Оптимална рН вредност подлоге за *D. serotinus* је 5,8, упркос томе што на свом природном станишту расте на алкалном земљишту (рН = 8,0). Задовољавајући резултати се постижу и при рН = 6,8, док даље повећање рН вредности инхибира раст изданака и доводи до појаве некроза и витрификација.

Као извор угљеника у подлогама за умножавање изданака најповољнијом се показала сахароза у концентрацији 30 gL^{-1} код сва три испитана каранфила, а задовољавајући резултати су добијени и коришћењем 30 gL^{-1} глукозе, док фруктозу треба избегавати. По аутоклавирању рН вредност подлоге опада, а степен закишељавања зависи

од врсте и концентрације шећера: најмање опада када се користи сахароза, а највише уколико је у подлози фруктоза. Исти ефекат показује и различита концентрација, тако да се неповољан утицај виших концентрација шећера испољава двојачко, закишељавањем подлоге као и њеним високим осмотским притиском.

На основу добијених резултата кандидаткиња закључује да оптимална подлога за мултипликацију *D. serotinus* садржи 1/2MS концентрације минералних соли, 0,44 μM ВАР и 0,54 μM NAA, са вршним резницама као почетним експлантима. Хранљива подлога за *D. pinifolius* треба да садржи MS концентрацију минералних соли, 2,22 μM ВАР и 0,54 μM NAA, а користити вршне резнице. За размножавање *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus* такође треба користити вршне резнице, док оптимална подлога у том случају садржи 1/2MS минералне соли, 2,22 μM ВАР и 0,54 μM NAA.

За ожиљавање експланта сва три испитана таксона потребно је користити подлоге са 2,68 μM NAA. Међутим, *D. serotinus* треба ожиљавати на 1/2MS подлогама, а као експланте користити нодусне резнице и терминалне пупољке. *D. pinifolius* треба ожиљавати на MS подлогама, а успешно се могу користити сви типови експланата (нодусне и вршне резнице и терминални пупољци). Код *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus* ожиљавање треба вршити на 1/2MS подлогама, при том користити вршне резнице, а избегавати коришћење нодусних резница и терминалних пупољака.

Даље кандидаткиња закључује да просечан број коренова који се формира током *in vitro* ожиљавања испитаних таксона не зависи од типа експланта већ од концентрације MS соли у подлози, и код *D. serotinus* и *D. pinifolius* је већи на MS подлогама, а код *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus* на 1/2MS подлогама. Утицај повећања концентрације NAA на формирање већег броја коренова је био присутан код *D. serotinus* и *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus*, али не и код *D. pinifolius*. Концентрација NAA је утицала на дужину коренова код *D. serotinus*, тако да су се на подлогама са нижом концентрацијом NAA формирали дужи коренови. Код *D. pinifolius* и *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus* на дужину коренова NAA није имала утицаја, али тип експланта јесте и дужи коренови су формирано код вршних резница, него код нодусних резница и терминалних пупољака.

Аклиматизација испитиваних каранфила је била успешна, а проценат аклиматизације је прелазило 88% код *D. serotinus*, 95% код *D. pinifolius* и достигао 90% код *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus*. Процент аклиматизације каранфила зависио је од врсте

супстрата који се користи, а код сва три таксона најповољнији резултати су добијени коришћењем мешавине тресета и песка у односу 4 : 1. Тип експланта из ког се развила ожиљена *in vitro* биљка такође је имао утицаја на аклиматизацију *D. pinifolius* и *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus*, фаворизујући ожиљене вршне резнице, док код *D. serotinus* порекло ожиљених биљчица није имало утицаја на аклиматизацију.

Ожиљавање на подлогама без агара истовремено са аклиматизацијом, уз додатак стерилног песка или перлита као потпорне компоненте се не препоручује ни код једног од испитиваних каранфила због великог процента некротираних изданака па кандидаткиња предлаже испитивање могућности примене ауотрофног система микропропагације (photoautotrophic micropropagation system - PMS).

Иако кандидаткиња с правом препоручује садни материјал добијен током ових истраживања као полазни материјал за размножавање ових врста класичним методама, наступа са оправданом дозом опрезности када је у питању *ex situ* и *in situ* конзервација, залажући се за претходно истраживање генетичке структуре популација ових каранфила, као и детаљна истраживања екологије врста присутних на природним локалитетима истражених каранфила.. Протокол размножавања приказан у овом раду је само један корак ка мултидисциплинарном приступу неопходном за успешну конзервацију ових таксона.

7. Литература (259 - 287)

Поглавље *Литература* садржи 312 литературних навода коришћених током израде и писања дисертације.

Закључак и предлог

На основу свеобухватне анализе израђене докторске дисертације, добијених резултата и закључака, Комисија констатује да је кандидаткиња мр Марија Марковић

истраживала за науку и праксу значајан и актуелан проблем. У раду је примењен одговарајући мултидисциплинарни приступ, коришћене су савремене методе, као и најновија, веома обимна литература. Практична примена добијених резултата огледа се у дефинисању комплетног и детаљног протокола за брзо и ефикасно размножавање угрожених таксона *D. serotinus*, *D. pinifolius* и *D. giganteiformis* ssp. *kladovanus* без притиска на природну популацију. На тај начин је омогућено добијање довољне количине биљака неопходне за њихову *in situ* и *ex situ* заштиту, чиме је створена основа неопходна за пројекте реинтродукције. Поред практичне примене, израђена докторска дисертација има и значајан научни допринос. Истражено је дејство великог броја фактора у различитим фазама микропропагације, а први пут код таксона рода *Dianthus* истражен је и ефекат различите врсте и концентрације извора угљених хидрата у подлози на раст *in vitro* култура, и добијени резултати су већ публиковани у међународном часопису на SCI листи.

На основу изложеног, Комисија закључује да је докторска дисертација мр Марије Марковић, асистенткиње Универзитета у Београду, Шумарског факултета, оригиналан и самосталан научни рад, и да представља значајан допринос науци и пракси.

Комисија са задовољством предлаже Научно-наставном већу Шумарског факултета у Београду, да прихвати позитивну оцену израђене докторске дисертације мр Марије Марковић, под насловом „Размножавање неких угрожених врста каранфила (*Dianthus* L.) методом микропропагације“ и омогући даљу процедуру која предстоји јавној одбрани на Шумарском факултету у Београду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

1. Др Михаило Грбић, редовни професор Универзитета у Београду – Шумарског факултета,

2. Др Матилда Ђукић, редовни професор Универзитета у Београду – Шумарског факултета

3. Др Јелена Томићевић-Дубљевић, ванредни професор Универзитета у Београду – Шумарског факултета

4. Др Драгана Стојичић, ванредни професор Универзитета у Нишу - Природно-математичког факултета,

5. Др Данијела Ђунисијевић-Бојовић, доцент Универзитета у Београду – Шумарског факултета