

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На Х редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 05. септембра 2016. год. прихваћен је извештај ментора др Бранислава Шилера, вишег научног сарадника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду (ИБИСС) и др Михаила Јелића, доцента Биолошког факултета Универзитета у Београду да је **Тијана Б. Бањанац**, истраживач сарадник ИБИСС, урадила и написала докторску дисертацију под насловом „**Физиолошки и молекуларно-генетички показатељи међуврсне хибридизације у оквиру рода *Centaurium Hill (Gentianaceae)***“ и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Бранислав Шилер, виши научни сарадник ИБИСС Универзитета у Београду, др Михаило Јелић, доцент Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Данијела Мишић, виши научни сарадник ИБИСС Универзитета у Београду, др Анета Сабовљевић, ванредни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду и др Милан Драгићевић, научни сарадник ИБИСС Универзитета у Београду.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација **Тијане Б. Бањанац** под насловом „**Физиолошки и молекуларно-генетички показатељи међуврсне хибридизације у оквиру рода *Centaurium Hill (Gentianaceae)***“ садржи: насловну страну на српском и енглеском језику, страну са подацима о менторима и члановима комисије, захвалницу, резиме на српском и енглеском језику, садржај, текст рада по поглављима, биографију аутора и прилоге везане за ауторство. Текст дисертације садржи 200 страна, 9 поглавља, 34 слике, 19 табела и 287 литературних цитата. Поглавља у раду подељена су на: **Увод** (46 страна), **Циљ рада** (1 страна), **Материјал и методе** (36 страна), **Резултати** (42 стране), **Дискусија** (38 страна), **Закључци** (2 стране), **Литература** (28 страна), **Прилог** (6 страна) и **Биографија аутора** (1 страна).

Анализа докторске дисертације:

У поглављу **Увод** кандидат разматра основне механизме специјације код биљака, са посебним освртом на полиплоидизацију и међуврсну хибридизацију, еволуционе процесе који су учествовали у оквиру рода *Centaurium*. Опширан преглед литературе указује на учесталост ових механизма код биљака и на последице њиховог деловања које се огледају кроз промене на генетичком материјалу. Детаљним описом молекуларних маркера који су коришћени током истраживања указано је на значај и информативност података добијених на овај начин, као и на предност и мане закључака који могу да се донесу њиховом употребом. Кандидат такође даје анализу квантитативних фитохемијских маркера који се примењују у популационој генетици, са посебним освртом на класе секундарних

метаболита и њихове биосинтетске путеве. Квантитативни садржај и однос хемијских једињења која су специфична за одређене биљне таксоне, може бити изузетно користан параметар у анализи и разумевању комплексног обрасца варијабилности. Истиче се значај мултидисциплинарног приступа, уз примену морфолошких, биохемијских и молекуларно-генетичких истраживања у анализи диверзитета биљака.

У поглављу **Циљ рада** описан је предмет истраживања и дефинисани су циљеви у решавању постављеног проблема. Предмет ове докторске дисертације била су генерална разматрања појаве међуврсне хибридизације у оквиру рода *Centaurium*, а нарочито конкретан случај хибридизације између *C. erythraea* и *C. littorale* ssp. *compressum*, која је претпостављена на подручју Суботичко-хоргошке пешчаре. Један од најбитних циљева био је да се успостављени модел систем детекције међуврсне хибридизације у условима *in vitro* примени у циљу детекције ове појаве у природним популацијама. Реализација постављених циљева укључила је: *de novo* конструисање и карактеризацију полиморфних *EST-SSR* маркера за брзу детерминацију таксона и детекцију међуврсних хибрида у оквиру рода *Centaurium*, процену генетичке варијабилности популација паренталних врста и хибридогеног таксона, одређивање варијабилности у садржају једињења секундарног метаболизма биљака са циљем идентификације и селекције фитохемијских маркера који се могу користити за даљу поуздану хемотаксономску класификацију у оквиру рода *Centaurium*, као и описивање потенцијално хибридних јединки и предлагање еволуционо-генетичких механизма њиховог настајања, стабилизације и одржања на природним стаништима.

У поглављу **Материјал и методе** описане су следеће методе: прикупљање биљног материјала родитељских и хибридних таксона и успостављање колекције семена; експериментално испитивање међуврсне хибридизације између анализираних таксона у условима *in vitro*; испитивање нивоа плоидности јединки анализираних таксона; одабир, развијање, оптимизацију и примену одговарајућих молекуларних (*RAPD*, *EST-SSR*) и фитохемијских маркера (20 одабраних једињења из групе секоиридоида и фенола) у анализама међуврсне хибридизације и разликовања родитељских и хибридних јединки; статистичку обраду података и процену генетичких дистанци између анализираних таксона; разматрање могућих механизма који су довели до стварања хибридогеног таксона *C. ranunculoides*.

У првом делу поглавља **Резултати** наводи се да су у експериментима *in vitro* успешно хибридизована два таксона *Centaurium erythraea* и *Centaurium littorale*, чије је хибридно потомство анализирано проточном цитометријом, *RAPD* молекуларним маркерима и фитохемијским маркерима, и тако успостављен модел систем за даље проучавање процеса међуврсне хибридизације на природним стаништима. Прелиминарним истраживањима природних популација *Centaurium erythraea* и *Centaurium littorale* ssp. *compressum*, као и биљака морфолошки интермедијарног хабитуса, помоћу *RAPD* молекуларних маркера, показано је да се ове биљке и генетички разликују од прве две врсте. Биоинформатичким приступом на основу секвенцираног генома *Centaurium erythraea* успешно су конструисани *EST-SSR* маркери са адекватном резолуцијом за испуњавање циљева дисертације. Раздвајање продуката *PCR* реакција извршено је помоћу *Lab-on-a-Chip* технологије, а додатна прецизност величине фрагмената је постигнута додавањем интерног стандарда у саме узорке. Два типа молекуларних маркера, од тога један који обухвата анализу осам *EST-SSR* локуса специјално развијену за потребе ове дисертације, показали су груписање јединки и популација према њиховој таксономској

припадности, са неколико изузетака. Поред тога, квантификовано је 20 одабраних једињења секундарног метаболизма, секоиридоидних глукозида и фенола, чија употреба на истом сету узорака подржава груписање јединки добијено молекуларним маркерима. Успостављен је статистички модел који је на основу само пет фитохемијских маркера: сверцијамарина, синапинске киселине, декузатина, еустомина и деметилеустомина, показао је високу предикцију припадности таксономским категоријама непознатог узорка. Резултати овог истраживања пружили су конзистентне доказе о постојању хибридогеног таксона *Centaureum pannonicum* и дали ширу слику о учесталој међуврсној хибридизацији унутар рода *Centaureum*.

У поглављу **Дискусија**, о резултатима овог истраживања дискутовано је на више нивоа. Разматрани су резултати процене плоидности јединки, добијених генетичких дистанци између њих, положај хибридогеног таксона у односу на паренталне врсте, а предложени су и механизми његовог настанка и одржавања на стаништима која већ насељавају родитељске врсте. Све то је критички разматрано у односу на релевантну научну литературу.

На основу добијених резултата, у поглављу **Закључци** кандидат истиче да је потврђено постојање међуврсних хексаплоидних хибрида на територији Суботичко-хоргошке пешчаре и то између врста *Centaureum erythraea* и *C. littorale* ssp. *compressum*. Такође закључује да је *de novo* развијеним микросателитским маркерима (*EST-SSR*) утврђено је да хибридогени таксон конвергира врсти *C. erythraea*, док се паренталне врсте јасно раздвајају на основу генетичких дистанци. Уз то, додаје да је одабрани сет од 20 једињења секундарног метаболизма показао високу дискриминаторну резолуцију за потребе тасономске класификације у случају анализираних међуврсних хибридизација *Centaureum erythraea* × *C. littorale* ssp. *compressum* док хибридогени таксон *C. pannonicum* у овом случају конвергира врсти *C. littorale* ssp. *compressum*.

У поглављу **Литература** приказане научне публикације се односе на области које су од значаја за урађену дисертацију и цитиране су на начин који објашњава и потврђује добијене резултате.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Banjanac, T.**, Šiler, B., Skorić, M., Ghalawenji, N., Milutinović, M., Božić, D., Mišić, D. (2014) Interspecific *in vitro* hybridization in genus *Centaureum* and identification of hybrids via flow cytometry, RAPD, and secondary metabolite profiles. *Turkish Journal of Botany* 38: 68-79 (**M22**)

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. Đedović, N., Novaković, L., Šiler, B., **Banjanac, T.**, Avramov, S., Skorić, M., Mišić, D. (2013) Employment of DNA markers and morphological traits to estimate genetic variability of the extremely rare *Centaureum littorale* ssp. *uliginosum* in Serbia. 1st International Conference on Plant Biology, 20th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society, Subotica, Serbia, *Book of Abstracts*, 150.
2. **Banjanac, T.**, Šiler, B., Skorić, M., Mišić, D., (2014) Molecular and phytochemical tools for identification of interspecific hybrids in the genus *Centaureum*. V Congress of the Serbian Genetic Society Kladovo-Belgrade *Book of abstracts*, 205.

3. **Banjanac, T.**, Belamarić, M., Skorić, M., Mišić, D., Malkov, S., Jelić, M., Šiler, B. (2015) Pursuit for transcriptome microsatellites towards estimation of genetic variation, species discrimination and detection of interspecific hybrids within the genus *Centaureum*. 2st International Conference on Plant Biology, 21th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society, Petnica, Serbia, *Book of Abstracts*, 119.

Мишљење и предлог Комисије:

Докторска дисертација **Тијане Б. Бањанац** под насловом „**Физиолошки и молекуларно-генетички показатељи међуврсне хибридизације у оквиру рода *Centaureum Hill (Gentianaceae)***“, представља оригинално, мултидисциплинарно научно дело у коме кандидат користи иновативне методолошке приступе у расветљавању комплексног питања међуврсне хибридизације код полиплоидних таксона. Резултати објављени у овој дисертацији су адекватно представљени и правилно и систематично дискутовани у светлу савремених научних трендова, а закључци су јасно и сажето изнети.

Имајући у виду значај и научну вредност резултата, као и начин на који су изложени и интерпретирани, Комисија предлаже Наставно- научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и одобри јавну одбрану ове докторске дисертације у складу са важећим прописима.

У Београду, 19. 10. 2016. године

КОМИСИЈА:

др Бранислав Шилер, виши научни сарадник
Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања
„Синиша Станковић“

др Михаило Јелић, доцент
Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Данијела Мишић, виши научни сарадник
Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања
„Синиша Станковић“

др Анета Сабовљевић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Милан Драгићевић, научни сарадник
Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања
„Синиша Станковић“