

**UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET
NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU**

Predmet: referat o urađenoj doktorskoj disertaciji kandidata Nede Radovanović, dipl. biologa zaštite životne sredine

Odlukom Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, br. 35/395 od 24.12.2020. godine, imenovani smo za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata Nede R. Radovanović pod naslovom „**Biostimulatori biljnog rasta poreklom iz morske sredine za primenu u agroindustriji**”. Nakon pregleda dostavljene disertacije i drugih pratećih materijala i razgovora sa kandidatom Komisija je sačinila sledeći

REFERAT

1. UVOD

1.1. Hronologija odobravanja i izrade disertacije

- Školske 2012/2013. godine Neda Radovanović, dipl. biolog zaštite životne sredine upisala je doktorske akademske studije na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.
- 31.1.2019. Kandidat Neda Radovanović je predložila temu doktorske disertacije pod nazivom: „Biostimulatori biljnog rasta poreklom iz morske sredine za primenu u agroindustriji“, a Nastavno-naučno veće Tehnološko-metalurškog fakulteta u Beogradu usvojilo je Komisiju za ocenu naučne zasnovanosti predložene teme.
- 7.3.2019. Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta doneta je odluka o prihvatanju Referata Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata za izradu doktorske disertacije, a za mentora je imenovana dr Suzana Dimitrijević-Branković, redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta.
- 25.3.2019. Na sednici Veća naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu data je saglasnost na predlog teme doktorske disertacije kandidata Nede Radovanović, dipl. biologa zaštite životne sredine, pod nazivom „Biostimulatori biljnog rasta poreklom iz morske sredine za primenu u agroindustriji“.
- 24.12.2020. na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta doneta je odluka o imenovanju članova Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata Nede Radovanović, dipl. biologa zaštite životne sredine, pod nazivom „Biostimulatori biljnog rasta poreklom iz morske sredine za primenu u agroindustriji“.

1.2. Naučna oblast disertacije

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti Tehnološko inženjerstvo, uža naučna oblast Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija, za koju je Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu matična ustanova. Mentor ove doktorske disertacije je dr Suzana Dimitrijević-Branković, redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta koja je na osnovu dosadašnjih objavljenih naučnih radova i iskustva kompetentna da rukovodi izradom ove doktorske disertacije.

1.3. Biografski podaci o kandidatu

Neda Radovanović je rođena 7. septembra 1985. godine u Beogradu, Republika Srbija. Osnovnu školu završila je u Beogradu, a “Zemunsku gimnaziju” prirodno-matematičkog smera u Zemunu. Školske 2004/2005. godine upisala je Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, studijski program Ekologija i zaštita životne sredine. Diplomirala je 2011. godine čime je stekla zvanje Diplomirani biolog zaštite životne sredine. Doktorske akademske studije je upisala školske 2012/2013. godine na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju pod mentorstvom prof. dr Suzane Dimitrijević-Branković. U okviru doktorskih studija položila je sve ispite predviđene studijskim programom, sa prosečnom ocenom 9,81. Završni ispit na doktorskim studijama pod nazivom: „Izolacija, fenotipska i molekularna karakterizacija mikroorganizama iz različitih prirodnih staništa sa potencijalom produkcije bioaktivnih jedinjenja“, odbranila je sa ocenom 10, dana 17. septembra 2014. godine.

Od 2013-2017 godine kao stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije angažovana je na projektu pod nazivom „Primena biotehnoških metoda u održivom iskorišćenju nus-proizvoda agroindustrije“ (evidencioni broj projekta TR 31035) kojim rukovodi prof. dr Suzana Dimitrijević-Branković. Od 1. jula 2017. godine zaposlena je na Inovacionom centru Tehnološko-metalurškog fakulteta, gde je angažovana kao istraživač saradnik na gore navedenom projektu. U zvanje istraživač saradnik izabrana je 23. juna 2016., a reizabrana je 30. maja 2019. godine.

Takođe, u periodu od 1. aprila-1. juna 2013. godine pohađala je praksu u okviru Short Therm Scientific Mission u organizaciji COST.eu u okviru projekta GENIEUR BM1106, u Laboratoriji za Mikrobiologiju Wageningen Univerziteta, Wageningen u Holandiji. U septembru 2016. godine, pohađala je i aktivno učestvovala u radionici Quality Of Life Workshop „Nano For Health” u organizaciji Assosiation of Italian and Serbian Scientists and Scholars, održanoj na Institutu „Mihajlo Pupin”. Autor ili koautor je deset radova u međunarodnim časopisima (tri rada u M21a, jednog rada u M21, četiri M22, i dva M23), dva rada u nacionalnim časopisima (M51), jednog rada u tematskom zborniku međunarodnog značaja (M14) i četiri saopštenja sa međunarodnih skupova (M33 i M34).

2. OPIS DISERTACIJE

2.1. Sadržaj disertacije

Doktorska disertacija Nede Radovanović pod nazivom „Biostimulatori biljnog rasta poreklom iz morske sredine za primenu u agroindustriji“ napisana je na 99 numerisanih strana, sa ukupno 7 poglavlja i Prilogom 1 i uključuje 31 sliku (25 u tekstu i 6 u Prilogu 1), 12 tabela i 221 literaturni navod. Disertacija sadrži sledeća poglavlja: *Uvod, Pregled literature, Ciljevi rada, Materijal i metode, Rezultati i diskusija, Zaključak i Literatura*. Na početku disertacije dat je Rezime na srpskom i engleskom jeziku. Na kraju disertacije data je biografija kandidata, kao i potpisane izjave o autorstvu, istovetnosti elektronske i štampane verzije doktorske disertacije i o korišćenju. Po svojoj formi i sadržaju, podneti rad zadovoljava sve standarde za doktorsku disertaciju.

2.2. Kratak prikaz pojedinih poglavlja

U Uvodu disertacije ukazano je na potrebu korišćenja ekoloških i ekonomski prihvatljivih pristupa u agroindustriji koji će omogućiti povećanje prinosa i zaštitu biljaka, odnosno na mogućnost razvoja biostimulatora biljnog rasta. Istaknut je značaj bakterijskih izolata iz različitih staništa životne sredine, sa posebnim osvrtom na morske organizme, kao i polisaharida iz morskih algi kao prirodnih agenasa sa pozitivnim efektom na rast biljaka. Ukazano je na mogućnost upotrebe polimera na bazi polisaharida iz morskih algi u oblasti agroindustrije. Naveden je plan istraživanja i osnovni ciljevi ove doktorske disertacije.

Pregled literature je podeljen na četiri tematske celine. U prvom delu dat je kratak pregled i hronologija istraživanja morskih staništa, sa osvrtom na veliki potencijal ovih staništa kao bogatog izvora bioaktivnih agenasa. U drugoj tematskoj celini, dat je pregled mogućnosti primene bakterija stimulatora biljnog rasta u oblasti agroindustrije i detaljno su opisani njihovi mehanizmi delovanja. Dat je poseban akcenat na mogućnost upotrebe bakterija iz roda *Bacillus* kao biostimulatora biljnog rasta. Treća tematska celina posvećena je morskim algama. Navedena je kratka hronologija istraživanja ovih organizama, kao i oblasti u kojima se one najviše primenjuju, među kojima je i agroindustrija. Akcenat je stavljen na polisaharide izolovane iz morskih algi i mehanizme kojima stimulišu rast biljaka. Poslednje poglavlje obrađuje tematiku primene polimera u agroindustriji. Najpre su prikazane mogućnosti korišćenja uobičajenih, sintetičkih polimera u agroindustriji u vidu malčeva, i dat je pregled osnovnih fizičkih osobina koje treba da poseduju za njihovu specifičnu primenu. Ukazano je na njihove prednosti i mane, kao i mogućnost prevazilaženja mana primenom prirodnih polimera na bazi polisaharida. U posebnom potpoglavlju obrađena je tematika upotrebe polisaharida iz morskih algi, tačnije agara i alginata u agroindustriji. Navedena su njihova strukturna i funkcionalna svojstva, kao i mogućnost modifikacije i funkcionalizacije za primenu u oblasti agroindustrije.

U poglavlju Ciljevi rada dat je osnovni cilj teze i pobrojani su specifični ciljevi.

Poglavlje Materijal i metode sadrži detaljan opis svih metoda korišćenih tokom izrade disertacije. Prvo su opisane metode za izolaciju mikroorganizama iz morskog sedimenta, a zatim metode kojima je utvrđeno prisustvo mehanizama stimulacije biljnog rasta kod izolovanih čistih kultura. Zatim su opisane metode za identifikaciju i karakterizaciju odabranog bakterijskog izolata, kao i metode kojima je bliže utvrđen njegov potencijal stimulacije biljnog rasta i to kroz: ispitivanje antifungalne aktivnosti prema biljnim patogenim plesnima i fitotoksičnosti u *in vitro* uslovima, kao i pospešivanje rasta biljaka u *in vivo* uslovima. Nakon toga prikazan je postupak sinteze i funkcionalizacije filmova na bazi polisaharida iz morskih algi (agara i alginata) odnosno metode *in situ* mineralizacije i metode eksternog umrežavanja filmova u prisustvu jona bakra. Zatim su prikazane metode kojima su filmovi okarakterisani sa stanovišta hemijske strukture i površinske morfologije, kao i njihovih optičkih, mehaničkih i barijernih svojstava. Takođe opisane su i metode kojima su ispitana biološka svojstva odabranih formulacija filmova, utvrđivanjem njihovog antifungalnog dejstva, a na kraju ovog poglavlja data je i metoda kojom je procenjen efekat prevlaka na bazi polisaharida alginata, ekstraćelijskog filtrata novoizolovanog soja *Bacillus* sp. PPM3 i jona bakra, na parametre rasta biljke mugo pasulja.

Poglavlje Rezultati i diskusija obuhvata prikaz rezultata dobijenih u eksperimentalnom delu u ovoj disertaciji, njihovu analizu i diskusiju koja uključuje poređenje sa literaturnim podacima i podeljeno je u sedam potpoglavlja. Na samom početku prikazani su rezultati koji se tiču izolacije kao i osnovnih morfoloških karakteristika izolovanih mikroorganizama iz morskog sedimenta. Odabir radnog mikroorganizma je izvršen na osnovu utvrđivanja prisustva direktnih i

indirektnih mehanizama stimulacije biljnog rasta, pa su u ovom potpoglavlju prikazani rezultati koji se tiču sposobnosti izolovanih sojeva da: fiksiraju atmosferski azot, rastvaraju neorganski fosfat, sprečavaju rast biljnih plesni i proizvode vanćelijski litičke enzime (proteaze, celulaze, hitinaze i amilaze). Na osnovu rezultata karakterizacije i identifikacije odabranog soja, oznake PPM3, koje su izvršene standardnim mikrobiološkim metodama, kao i molekularnim metodama (sekvencioniranjem gena kojim je kodirana sinteza 16S rRNK i sinteza enzima DNK giraze A), utvrđeno je da izolat pripada rodu *Bacillus*, odnosno *B. subtilis* grupi. Utvrđene su i ekofiziološke karakteristike odabranog soja *Bacillus* sp. PPM3, a u posebnom potpoglavlju detaljno je utvrđen biokontrolni potencijal ekstraćelijskog filtrata soja *Bacillus* sp. PPM3 *in vitro*. U narednom potpoglavlju prikazani su rezultati molekularne detekcije antifungalnih jedinjenja lipopeptida, izvršena je njihova ekstrakcija iz novoizolovanog soja *Bacillus* sp. PPM3, a zatim je prikazano antifungalno dejstvo lipopeptidnih ekstrakta prema biljnim patogenim plesnima. U petom potpoglavlju prikazani su rezultati fitotoksičnosti soja *Bacillus* sp. PPM3, kao i rezultati *in vivo* ogleđa u kome je utvrđen pozitivan efekat odabranog soja na rast dve biljke (kukuruza i mungo pasulja). U šestom potpoglavlju prikazani su rezultati sinteze i funkcionalizacije filmova na bazi polisaharida iz morskih algi (agara i alginata), a zatim i rezultati njihove karakterizacije. Najpre su prikazani rezultati morfoloških svojstava i strukture funkcionalizovanih filmova, a zatim i njihova optička, mehanička i barijerna svojstva prema vodenoj pari. Utvrđeno je da se odabranim metodama sinteze i funkcionalizacije filmova na bazi agara i alginata mogu dobiti materijali zadovoljavajućih karakteristika za primenu u agroindustriji u vidu malčeva. U poslednjem potpoglavlju su prikazani rezultati ispitivanja antifungalnog svojstva odabranih formulacija filmova (na bazi alginata, ekstraćelijskog filtrata soja *Bacillus* sp. PPM3 i bakarnih jona), a zatim je pokazana i mogućnost njihove primene u vidu prevlaka (malčeva) na površini zemljišta, sa namenom pospešivanja rasta biljaka.

U poglavlju Zaključak, sumirani su najznačajniji rezultati i saznanja proistekla iz ove doktorske disertacije.

U poglavlju Literatura navedene su sve reference citirane u doktorskoj disertaciji.

3. OCENA DISERTACIJE

3.1. Savremenost, originalnost i značaj

Uzimajući u obzir konstantan porast broja stanovništva sa jedne strane, i sve veću degradiranost životne sredine usled industrijalizacije sa druge, mogućnost proizvodnje hrane za rastuće svetsko stanovništvo predstavlja veliki izazov. Kako bi obezbedila adekvatne prinose, savremena poljoprivreda, već dugi niz godina „odgovara” na ove izazove upotrebom hemikalija (fertilizatora, herbicida i pesticida), koje iako su uglavnom delotvorne, dugoročno imaju negativan uticaj na ljudsko zdravlje i životnu sredinu uopšte. Stoga, poslednjih godina postoji težnja za pronalaženjem novih, ekološki i ekonomski prihvatljivih pristupa, koji će obezbediti održivost u agroindustriji. Razvojem biostimulatora biljnog rasta, odnosno pronalaženjem i razvojem jeftinih hemijskih i bioloških agenasa koji se mogu dobiti iz prirodnih izvora, uspešno se mogu prevazići neki od problema nastali upotrebom štetnih hemikalija. Među biološkim agensima sa biostimulatornim dejstvom na biljke, mikroorganizmi izolovani iz zemljišta, naročito predstavnici roda *Bacillus*, imaju najveći komercijalni značaj, s obzirom na njihovu rasprostranjenost, genetičku raznovrsnost i GRAS status (engl.-*Generally Regarded As Safe*). Ćelijske suspenzije, kao i produkti metabolizma ovih mikroorganizama sastavni su delovi komercijalnih proizvoda koji

se upotrebljavaju kao fertilizatori ili biopesticidi. Morska sredina, iako nije previše istraživana, može biti bogat izvor različitih grupa mikroorganizama koji će ispoljiti pozitivno dejstvo na rast biljke. Takođe morske alge, odnosno ekstrakti morskih algi imaju veliki potencijal za primenu u agroindustriji zbog raznovrsnih korisnih uticaja koje ostvaruju na biljke. Stoga, poslednjih godina, morski organizmi sve više dospevaju u fokus istraživača kao atraktivan i nov izvor za pripremu preparata za poboljšanje produktivnosti biljaka. Posebnu pažnju, kao biostimulatori biljnog rasta, privlače polisaharidi izolovani iz morskih algi (agar i alginat) jer su: biorazgradivi, biokompatibilni, netoksični, biološki reaktivni i jeftini, što ih čini pogodnim za primenu i u održivoj poljoprivredi. Uobičajena praksa primene biostimulatora uključuje njihovu upotrebu u obliku rastvora za prskanje ili spreja, što zahteva puno rada i upotrebu velike količine vode. Rešenje za ovaj problem može biti upotreba hidrogel prevlaka, odnosno filmova, koji mogu imati biostimulatorno dejstvo. Upravo polisaharidi poreklom iz morskih algi, zahvaljujući odličnim gelirajućim i prijanjajućim svojstvima, mogu poslužiti za formiranje filmova ili prevlaka, na površinama kao što su tlo i listovi biljaka. Dobra adhezivna svojstva ovih filmova, kao i mogućnost njihove primene standardnim tehnikama koje se inače koriste u poljoprivrednoj praksi, omogućava njihovu široku primenu. Dodatkom određenih biološki aktivnih komponenti, filmovi i prevlake na bazi polisaharida, mogu funkcionisati ne samo kao biostimulatori, već i kao bio-herbicidi, insekticidi i fungicidi.

Stoga je predmet istraživanja ove doktorske disertacije bio izolacija mikroorganizama iz morskog sedimenta, kao i sinteza hidrogel prevlaka, odnosno filmova na bazi polisaharida poreklom iz morskih algi (agara i alginata) i ispitivanje njihovog biostimulatornog dejstva na rast biljaka, samostalno i u kombinaciji, a sa ciljem utvrđivanja mogućnosti njihove primene u agroindustriji. Tokom izrade ove doktorske disertacije izolovan je potentan PGP (skraćeno od engl.- *Plant Growth Promotion*) soj identifikovan kao *Bacillus* sp. PPM3. Utvrđeno je da morski soj *Bacillus* sp. PPM3 ispoljava kako biostimulatorno, tako i biokontrolno svojstvo u laboratorijskim i realnim uslovima sredine. Značaj dobijenih rezultata ogleda se u efikasnosti i ekonomskoj isplativosti formulacija na bazi soja *Bacillus* sp. PPM3, jer svojim širokim spektrom dejstva jedan preparat može zameniti veći broj preparata sa pojedinačnim korisnim svojstvima. Takođe, utvrđeno je da se jednostavnim umešavanjem metabolita PGP soja *Bacillus* sp. PPM3 u polimerni rastvor polisaharida iz morskih algi (agara i alginata) mogu dobiti filmovi koji se mogu primeniti u vidu malčeva na poljoprivrednim površinama, zahvaljujući odličnim fizičkim kao i biološkim (antifungalnim) svojstvima. Na kraju, pokazano je da prevlake na bazi alginata, metabolita odabranog soja *Bacillus* sp. PPM3 i jona bakra pozitivno utiču, odnosno pospešuju rast biljke mungo pasulja tokom 21 dana gajenja. Značaj ovako formiranih prevlaka ogleda se pre svega u jednostavnosti primene, a zatim i u direktnom smanjenju troškova angažovanja kadra, jer ne zahteva mehanizaciju za postavljanje i ukljanjanje sa poljoprivrednih površina.

Na osnovu opsežnog pregleda literature, može se zaključiti da se istraživanja u okviru ove doktorske disertacije uklapaju u svetske trendove i ukazuju na značaj i aktuelnost proučavane problematike.

3.2. Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu

U okviru doktorske disertacije citiran je 221 literaturni navod što ukazuje na aktuelnost istraživanja u ispitivanoj oblasti, a većina referenci predstavlja naučne radove objavljene u vrhunskim međunarodnim časopisima u poslednjoj deceniji. Istraživanja prikazana u navedenim referencama su korišćena za planiranje eksperimentalnog rada, analizu i tumačenje rezultata

dobijenih tokom izrade doktorske disertacije i izvođenje zaključaka. Takođe, među literaturnim navodima se nalaze relevantni udžbenici i pregledni radovi ranijeg datuma, koji predstavljaju bazična saznanja iz predmetne oblasti i polaznu osnovu za tumačenje eksperimentalnih rezultata.

3.3. Opis i adekvatnost primenjenih naučnih metoda

Plan istraživanja u okviru doktorske disertacije je ostvaren korišćenjem odgovarajućih eksperimentalnih tehnika i savremenih analitičkih instrumentalnih metoda prema originalnim ili modifikovanim metodama iz literature, kao i adekvatnom analizom i obradom podataka.

U ovoj disertaciji, iz obalskog morskog sedimenta Crvenog mora, izolovano je 32 mikroorganizma. Primarni skrining i selekcija potencijalnih stimulatora biljnog rasta među izolovanim sojevima, obavljen je utvrđivanjem prisustva direktnih mehanizama stimulacije biljnog rasta (fiksacija azota i rastvaranje neorganskih fosfata) na odgovarajućim selektivnim mikrobiološkim podlogama, kao i indirektnih mehanizama stimulacije biljnog rasta (inhibicije rasta patogenih plesni u konfrontacijskom testu i produkcije litičkih enzima na selektivnim mikrobiološkim podlogama sa supstratima za ispitivane enzime). Karakterizacija i identifikacija odabranog soja *Bacillus* sp. PPM3 vršena je primenom standardnih mikrobioloških metoda i molekularnih metoda (sekvencioniranjem gena kojim je kodirana sinteza 16S rRNK i sinteza enzima DNK giraze A). Biostimulatorni, odnosno biokontrolni potencijal novog izolata *Bacillus* sp. PPM3 je detaljno ispitan u *in vitro* eksperimentu praćenjem radijalnog rasta plesni gajenim u prisustvu metabolita novoizolovanog soja, kao i molekularnom identifikacijom antifungalnih gena prisutnih kod ispitivanog soja. Potencijalna primena različitih formulacija na bazi novog soja *Bacillus* sp. PPM3 ispitana je *in vivo*, praćenjem parametara rasta biljke kukuruza u prisustvu i odsustvu patogena.

Filmovi na bazi polisaharida iz morskih algi (agara i alginata) sintetisani su jednostavnom metodom izlivanja polimernog rastvora uz otparavanje rastvarača. Funkcionalizacija filmova izvršena je umešavanjem bioaktivnih komponenti, i upotrebom dve metode umrežavanja polimera posredstvom jona bakra: *in situ* i eksterno umrežavanje. Za određivanje strukture sintetisanih filmova, korišćena je instrumentalna metoda FT-IR, a površinska morfologija filmova detaljnije je ispitana upotrebom skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM).

UV-Vis spektroskopija je korišćena kod ispitivanja optičkih svojstava sintetisanih filmova, jer osim što pruža informacije o uniformnosti strukture filmova, daje informacije o spektralnoj raspodeli propuštenog zračenja kroz površinu filmova, koje su važne sa aspekta fiziološkog odgovora biljke. Mehaničke osobine filmova određene su prema ASTM standardnoj metodi D882-10 (ASTM, 2010), a barijerna svojstva, odnosno propustljivost vodene pare, prema ASTM E96 metodi.

Biološka svojstva funkcionalizovanih filmova određena su ispitivanjem njihove antifungalne aktivnosti, odnosno mogućnosti sprečavanja rasta i prodiranja biljnih patogenih plesni kroz površinu filmova u testu penetracije. Postojanost malčirajućih prevlaka na bazi alginata tokom perioda od tri sedmice, kao i njihova efikasnost u pospešivanju biljnog rasta, određena je praćenjem osnovnih parametara rasta biljke mungo pasulja, odnosno merenjem visine biljke, ukupne širine listova i ukupne suve mase biljke.

3.4. Primenljivost ostvarenih rezultata

Rezultati dobijeni u okviru ove doktorske disertacije pružaju naučnu osnovu za primenu novoizolovanog morskog soja *Bacillus* sp. PPM3, samostalno i/ili kao sastavne aktivne komponente filmova, odnosno prevlaka na bazi polisaharida alginata za stimulaciju biljnog rasta i/ili zaštitu biljaka od patogena u oblasti agroindustrije. Imajući u vidu težnju da se smanji upotreba hemikalija koje se tradicionalno koriste u agroindustriji, razvoj ekoloških i ekonomski isplativih metoda za zaštitu, pospešivanje rasta i povećanje prinosa biljaka, predstavlja izuzetan doprinos u ovoj grani industrije. U ovoj doktorskoj disertaciji ustanovljeno je da novoizolovani soj *Bacillus* sp. PPM3, ima sposobnost rasta na širokom spektru supstrata i u širokom opsegu uslova temperature i pH, kao i da produkuje izrazito stabilna jedinjenja, što je sa aspekta tehnološke manipulacije ovim sojem, odnosno pripreme formulacija za specifičnu primenu na industrijskom nivou izuzetno povoljno. Utvrđeno je da formulacije na bazi aktivnih ćelija i/ili metabolita novoizolovanog soja *Bacillus* sp. PPM3, istovremeno ispoljavaju pozitivno dejstvo kako na rast, tako i na zaštitu biljaka od patogena, što se pored praktičnosti i jednostavnosti načina njegove primene na polju, takođe može ogledati i u smanjenju troškova koji se tiču pribavljanja i primene više pojedinačnih preparata sa istim ili sličnim dejstvom. U ovoj doktorskoj disertaciji pokazano je i da je jednostavnom i ekonomičnom metodom, umešavanjem metabolita biostimulatorskog soja *Bacillus* sp. PPM3 u rastvor polisaharida iz morskih algi (agara i alginata) koji predstavljaju jeftine, prirodne, netoksične, biokompatibilne i biorazgradive sirovine, i umrežavanjem solima bakra, moguće dobiti materijale sa zadovoljavajućim svojstvima za primenu u agroindustriji u vidu malčeva. Rezultati ove doktorske teze pokazali su i da su prevlake na bazi alginata, metabolita soja *Bacillus* sp. PPM3 i soli bakra, primenjene jednostavnom metodom raspršivanja na površini zemljišta, postojane i funkcionalne, te se mogu primeniti za pospešivanje rasta i/ili zaštitu biljaka u realnim uslovima sredine.

3.5. Ocena dostignutih sposobnosti kandidata za samostalni naučni rad

U svom dosadašnjem istraživačkom radu, kandidat Neda Radovanović, dipl. biolog zaštite životne sredine, pokazala je samostalnost i stručnost u pretraživanju literature, pripremi i realizaciji eksperimenata, korišćenju različitih tehnika karakterizacije i analizi i obradi rezultata. Na osnovu dosadašnjeg zalaganja i postignutih rezultata Komisija je mišljenja da kandidat poseduje sve kvalitete neophodne za samostalan naučno-istraživački rad.

4. OSTVARENI NAUČNI DOPRINOS

4.1. Prikaz ostvarenih naučnih doprinosa

Rezultati istraživanja u okviru ove doktorske disertacije imaju višestruko značajan naučni, ali i praktičan doprinos, pri čemu se može izdvojiti sledeće:

- Izolovan je i identifikovan novi bakterijski soj *Bacillus* sp. PPM3 iz morskog sedimenta koji ispoljava biostimulatorno i biokontrolno svojstvo u *in vitro* uslovima.
- Formulacije na bazi aktivnih ćelija i metabolita soja *Bacillus* sp. PPM3 ne ispoljavaju fitotoksični efekat i mogu se smatrati bezbednim za upotrebu na polju.
- Formulacije na bazi ćelija i EF *Bacillus* sp. PPM3 primenjene na polju, ispoljavaju kurativno biokontrolno, kao i biostimulatorno dejstvo na rast biljke kukuruza, što

ukazuje na veliki potencijal za praktičnu i jednostavnu upotrebu morskog soja *Bacillus* sp. PPM3 u vidu biofertilizatora i/ili biopesticida u održivoj poljoprivredi.

- Jednostavnim metodom izlivanja iz polimernog rastvora i umešavanjem bioaktivnih komponenti, uspešno su sintetisani filmovi na bazi polisaharida poreklom iz morskih algi (agara i alginata) i metabolita novoizolovanog soja *Bacillus* sp. PPM3.
- Metodama *in situ* i eksternog umrežavanja polimera, posredstvom soli metalnog jona bakra, značajno su poboljšane fizičke karakteristike (mehanička, optička i barijerna svojstva) sintetisanih filmova, sa aspekta njihove primene u agroindustriji u vidu malčeva.
- Upotrebljenim metodama sinteze i funkcionalizacije filmova na bazi agara i alginata sintetisani filmovi dobili su i dodatnu biološku funkciju (antifungalno svojstvo), čime je opseg njihove potencijalne primene u agroindustriji u vidu malčeva proširen.
- Primenom prevlaka na bazi alginata, metabolita novoizolovanog soja *Bacillus* sp. PPM3 i soli bakra, metodom raspršivanja na površini zemljišta, utvrđeno je njihovo pozitivno dejstvo na rast biljke kukuruza.

4.2. Kritička analiza rezultata istraživanja

Imajući u vidu negativne efekte upotrebe hemikalija u agroindustriji sa jedne strane, i rastuće zahteve svetskog stanovništva za proizvodnjom hrane, dolazi se do zaključka da postoji potreba za pronalaženjem novih ekoloških pristupa u agroindustrijskoj praksi, kao koji će ujedno biti i ekonomski isplativi. Razvoj biostimulatora rasta biljaka, odnosno pronalaženje i razvoj jeftinih hemijskih i/ili bioloških agenasa koji se mogu dobiti iz prirodnih izvora, može odgovoriti na ove potrebe. Pregledom dostupne naučne literature koja opisuje upotrebu bioloških agenasa za stimulaciju biljnog rasta, kao i razmatranjem rezultata proisteklih iz istraživanja u okviru ove doktorske disertacije, može se zaključiti da dobijeni preparati na bazi bioaktivnih agenasa poreklom iz morske sredine (mikroorganizmi, polisaharidi iz morskih algi), zadovoljavaju osnovne uslove za primenu u oblasti agroindustrije. Naime selekcijom i karakterizacijom izolovanih bakterijskih sojeva iz morskog sedimenta i odabirom najpotentnijeg (*Bacillus* sp. PPM3), dobijene su formulacije koje su se pokazale efikasnim kako sa aspekta zaštite biljke od patogena, tako i sa aspekta stimulacije rasta biljke, što omogućava njihovu primenu u održivoj poljoprivrednoj praksi. Sa druge strane, zbog niske cene i lake dostupnosti, biološke reaktivnosti i biokompatibilnosti, kao i raznolikosti u strukturama i hemijskim osobinama, a imajući u vidu pozitivan efekat na produktivnost biljaka, polisaharidi poreklom iz morskih algi, naročito agar i alginat, posebno su pogodni za dizajniranje novih preparata. Primenjenim metodama sinteze i funkcionalizacije filmova na bazi ovih polisaharida i biostimulatorskog soja *Bacillus* sp. PPM3, kao i metodama umrežavanja polimera (*in situ* mineralizacija i eksterno umrežavanje posredstvom soli bakra), dobijeni su materijali sa poželjnim optičkim, mehaničkim i barijernim svojstvima za specifičnu primenu u oblasti agroindustrije. Na osnovu rezultata disertacije, dobijene prevlake na bazi alginata, metabolita novog soja *Bacillus* sp. PPM3 i soli bakra, mogu biti efikasna alternativa konvencionalnim fertilizatorima/fungicidima kao i plastičnim malčevima koji se koriste u cilju zaštite i stimulacije rasta biljaka.

4.3. Verifikacija naučnih doprinosa

Kandidat Neda Radovanović je svoje rezultate potvrdila objavljivanjem radova u časopisima međunarodnog značaja kao i saopštavanjem radova na međunarodnim skupovima. U okviru izrade ove doktorske disertacije kandidat je prvi autor jednog rada objavljenog u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21), jednog rada u istaknutom međunarodnom časopisu (M22), i jednog rada saopštenog na skupu međunarodnog značaja (M34).

Spisak objavljenih radova direktno proisteklih iz teze je:

Kategorija M21-rad u vrhunskom međunarodnom časopisu

1. **Radovanović, N.**, Malagurski, I., Lević, S., Gordić, M., Petrović, J., Pavlović, V., Mitrić, M., Nešić, A., Dimitrijević-Branković, S.: Tailoring the physico-chemical and antimicrobial properties of agar-based films by *in situ* formation of Cu-mineral phase, European Polymer Journal, vol. 119, pp. 352-358, 2019 (**IF=3.862**) (ISSN: 0014-3057).

Kategorija M22-rad u istaknutom međunarodnom časopisu

1. **Radovanović, N.**, Milutinović, M., Mihajlovski, K., Jović, J., Nastasijević, B., Rajilić-Stojanović, M., Dimitrijević-Branković S.: Biocontrol and plant stimulating potential of novel strain *Bacillus* sp. PPM3 isolated from marine sediment, Microbial Pathogenesis, vol. 120, pp. 71–78, 2018 (**IF=2.914**) (ISSN:0882-4010).

Kategorija M34-saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu

1. **Radovanović N.**, Miljković, M., Davidović, S., Malagurski, I., Gordić, M., Nešić, A., Dimitrijević-Branković, S. Active agar mineralized composite films intended for food packaging, POLYCHAR 26, World Forum on Advanced Materials, 10 – 13 September, Tbilisi, Republic of Georgia, Ivane Javahishvili University, 2018, BOOK OF ABSTRACTS, str. [. \(www.polychar26.tsu.ge\)](http://www.polychar26.tsu.ge)

Ostali naučni radovi kandidata:

Kategorija M14-rad u tematskom zborniku međunarodnog značaja

1. Davidović S., Miljković M., **Radovanović N.**, Lazić V., Nešić A., Dimitrijević S.: Antimicrobial properties of dextran-based coatings incorporated with silver nanoparticles, NANO FOR HEALTH, P. R. Andjus, P.M. Spasojevic and P. Battinelli Eds., 21. septembar, 2016, Institut Mihajlo Pupin, 2016, pp. 137-143. ISBN: 978-86-7522-057-2.

Kategorija M21a-rad u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti

1. Mihajlovski K., **Radovanović N.**, Veljović Đ, Šiler-Marinković S., Dimitrijević-Branković S.: Improved β -amylase production on molasses and sugar beet pulp by a novel strain *Paenibacillus*

chitinolyticus CKS 1, Industrial Crops and Products, 80, 2016, pp. 115-122, ISSN: 0926-6690, **IF (2015)=3.449**, Agricultural Engineering (2/14)

2. Milutinović M., **Radovanović N.**, Ćorović M., Šiler-Marinković S., Rajilić-Stojanović M., Dimitrijević-Branković S.: Optimisation of microwave-assisted extraction parameters for antioxidants from waste *Achillea millefolium* dust, Industrial Crops and Products, 77, 2015, pp. 333-344, ISSN: 0926-6690, **IF (2015)=3.449**, Agricultural Engineering (2/14)

3. Milutinović M., **Radovanović N.**, Rajilić-Stojanović M., Šiler-Marinković S., Dimitrijević S., Dimitrijević-Branković S.: Microwave-assisted extraction for the recovery of antioxidants from waste *Equisetum arvense*, Industrial Crops and Products, 61, 2014, pp. 388-397, ISSN: 0926-6690, **IF (2015)=3.449**, Agricultural Engineering (2/14)

Kategorija M22-radovi u istaknutom međunarodnom časopisu

1. Nešić A., Cabrera-Barjas G., Dimitrijević-Branković S., Davidović S., **Radovanović N.**, Delattre C.: Prospect of Polysaccharide-Based Materials as Advanced Food Packaging, Molecules, 25 (1), 2020, pp.1-34, ISSN: 1420-3049, **IF(2019)=3.267**, Chemistry/Multidisciplinary (70/177)

2. **Radovanovic N.**, Malagurski I., Levic S., Nesic A., Cabrera-Barjas G., Kalusevic A., Nedovic V., Pavlovic V., Dimitrijevic-Brankovic S.: Influence of different concentrations of Zn-carbonate phase on physical-chemical properties of antimicrobial agar composite films, Materials Letters, 255, 2019, pp. 126572, ISSN 0167-577X, **IF(2019)=3.204**, Materials Science, Multidisciplinary (73/271)

3. Mihajlovski K., **Radovanović N.**, Miljković M., Šiler-Marinković S., Rajilić-Stojanović M., Dimitrijević-Branković S.: β -Amylase production from packaging-industry wastewater using a novel strain *Paenibacillus chitinolyticus* CKS 1, RSC Advances, 110(5), 2015, pp. 90895-90903, ISSN: 2046-2069, **IF (2015)= 3.289**, Chemistry/Multidisciplinary (49/163)

Kategorija M23-rad u međunarodnom časopisu

1. Jović J., Buntić A., **Radovanović N.**, Petrović B., Mojović Lj.: Lignin-degrading abilities of novel autochthonous fungal isolates *Trametes hirsuta* F13 and *Stereum gausapatum* F28, Food Technology and Biotechnology, 56(3), 2018, pp. 354-365, ISSN:1330-9862, **IF(2017)=1,168**, Biotechnology and Applied Microbiology (139/161)

2. Mihajlovski K., Davidović S., Carević M., **Radovanović N.**, Šiler-Marinković S., Rajilić-Stojanović M., Dimitrijević-Branković S.: Carboxymethyl cellulase production from a *Paenibacillus* sp., Hemijska Industrija, (70) 3, 2016, pp. 329-338, ISSN: 0367-598X, **IF(2017)=0.591**, Engineering/Chemical (114/137)

Kategorija M33-saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini

1. Mihajlovski K., **Radovanović N.**, Miljković M., Mladenović D., Dimitrijević-Branković S., Šiler- Marinković S.: Sugar beet pulp and molasses as a solid state fermentation media for cellulase production by *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1, Zbornik radova sa međunarodne konferencije XXIII Ekološka istina, Kopaonik, Jun 2015, pp. 403-408, ISBN 978-86-6305-032-7.

2. Pavlović M., Buntić A., Šiler-Marinković S., Antonović D., Milutinović M., **Radovanović N.**, Dimitrijević Branković S.: Spent coffee grounds as adsorbents for pesticide paraquat removal from its aqueous solutions. International conference on civil, biological and environmental engineering (CBEE), Istanbul, Turska, 27-28 maj, 2014, International Institute of Chemical, Biological and Environmental Engineering, Kuala Lumpur, Malezija, 2014, pp. 60-65, ISBN: 978-93-82242-94-9.

Kategorija M34-saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u sažetku

1. **Radovanović N.**, Miljković M., Davidović S., Milutinović M., Mihajlovski K., Dimitrijević-Branković S.: Agroindustrial waste as a substrate for cellulase production by *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1, Knjiga sažetaka, Petnaesta međunarodna konferencija mladih istraživača-Nauka i inženjerstvo novih materijala, Beograd, Srbija, 7-9 decembar 2016, SANU Instituti, Knez Mihailova 36, Beograd, Srbija, 2016, pp. 16, ISBN 978-86-80321-32-5.

Kategorija M51-rad u vrhunskom časopisu nacionalnog značaja

1. **Radovanović N.**, Davidović S., Miljković M., Pavlović M., Buntić A., Lazić V., Mihajlovski K.: β -amylase production by a novel strain *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1 using commercial and waste substrates, Journal on Processing and Energy in Agriculture, 22(1), 2018, pp. 18–22, ISSN:1821-4487.

2. Milutinović M., **Radovanović N.**, Dimitrijević S., Šiler-Marinković S., Dimitrijević-Branković S., Rajilić-Stojanović M.: Valorisation of medicinal plant waste - Production of polyphenolic antioxidant extracts from waste *Primula veris* L., Ecologica, 77, 2015, pp. 19-25, ISSN: 0354 – 3285.

5. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu svega napred izloženog, Komisija smatra da doktorska disertacija Nede Radovanović, dipl. biologa zaštite životne sredine, pod nazivom „Biostimulatori biljnog rasta poreklom iz morske sredine za primenu u agroindustriji” predstavlja značajan, originalni naučni doprinos u oblasti biohemijskog inženjerstva i biotehnologije, što je potvrđeno i objavljivanjem većeg broja radova u relevantnim časopisima međunarodnog značaja, prezentovanjem rezultata istraživanja na konferencijama, kao i proverom originalnosti korišćenjem softvera iThenticate. Kandidatkinja je samostalno i sistematično uradila istraživanja i analizu dobijenih rezultata.

Imajući u vidu kvalitet, obim i naučni doprinos ove doktorske disertacije Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću TMF-a da prihvati ovaj izveštaj i da ga, zajedno sa podnetom disertacijom Nede Radovanović, dipl. biologa zaštite životne sredine, prihvati, izloži na uvid javnosti i uputi na konačno usvajanje Veću naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu.

ČLANOVI KOMISIJE

Dr Suzana Dimitrijević-Branković, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-Metalurški fakultet

Dr Mirjana Rajilić-Stojanović, docent
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-Metalurški fakultet

Dr Vesna Lazić, viši naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke Vinča

Dr Slađana Davidović, naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-Metalurški fakultet