

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ -
БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА**

На X редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 10.09.2021. године, на основу молбе ментора, др Мирјане Стајић, редовног професора Биолошког факултета, Универзитета у Београду, и др Јасмине Ћилерцић, вишег научног сарадника Биолошког факултета, Универзитета у Београду, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације **Милице М. Галић**, истраживача сарадника Биолошког факултета, Универзитета у Београду, под насловом: **„Потенцијал лигноцелулолитичких гљива за разлагање биљног отпада и добијање биоетанола”**, у саставу: др Мирјана Стајић, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Јасмина Ћилерцић, виши научни сарадник Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Илија Брчески, ванредни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду, и др Јелена Вукојевић, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду.

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

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација **Милице М. Галић**, под насловом **„Потенцијал лигноцелулолитичких гљива за разлагање биљног отпада и добијање биоетанола”**, је написана на укупно 91 страни компјутерски обрађеног текста. Пагинирани текст (81 страна) садржи Биографију (1 страна), 6 поглавља докторске дисертације (76 страна): Увод (14 страна), Циљеви истраживања (1 страна), Материјал и методе (6 страна), Резултати и дискусија (38 страна), Закључци (2 стране), Литература (15 страна) и прилоге (4 стране) (изјава о ауторству, изјава о истовестности штампане и електронске верзије докторског рада и изјава о коришћењу). Дисертација садржи 6 табела (2 у поглављу Материјал и методе, 4 у поглављу Резултати и дискусија), 2 слике у поглављу Резултати и дискусија и 17 графика у поглављу Резултати и дискусија. Поглавље Литература садржи

269 библиографских јединица које се адекватно наводе у тексту. Непагинирани текст (10 страна) обухвата насловне стране и сажетке на српском и енглеском језику, листу ментора и чланова комисије, захвалницу, листу скраћеница, и садржај.

Анализа докторске дисертације

У докторској дисертацији кандидаткиња **Милица Галић** је проучавала потенцијал 27 врста макромицета и 11 врста микромицета за разлагање 8 врста отпада из пољопривреде и шумарства ради утврђивања најефикаснијег делигнификатора односно продуцента целулаза, као и њихове компатибилности за ферментацију најоптималнијег супстрата у ко-култури.

У поглављу **УВОД**, кандидаткиња је у оквиру пет потпоглавља дала детаљан приказ савремених истраживања која се односе на проблематику докторске дисертације, са посебним акцентом на улогу гљива у разградњи биљног отпада као и на могућност примене лигноцелулолитичких ензима у процесу добијања биоетанола. Такође, кандидаткиња даје преглед савремених истраживања о ко-култивацији гљива у контексту значаја њихове примене у деградацији лигноцелулозног материјала као једног од најважнијих али и најкритичнијих корака у процесу конверзије лигноцелулозе до етанола.

У складу с тим, у поглављу **ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА** кандидаткиња је поставила 6 циљева истраживања: (1) карактеризација лигнинолитичких ензима 10 врста гљива белог труљења и одређивање њиховог потенцијала да разлажу најприсутнији отпад из пољопривреде и шумарства у Србији; (2) одређивање капацитета одабраних макро- и микромицета да разлажу супстрат који се показао најоптималнијим у претходној фази истраживања и карактеризација њихових лигнинолитичких ензима; (3) испитивање утицаја супстрата претретираног високо селективним делигнификатором на динамику активности целулолитичких и хемицелулолитичких ензима код *Trichoderma viride*; (4) одређивање потенцијала одабраних микромицета да деполимеризују одабрани претретирани отпад; (5) одређивање потенцијала високо ефикасних делигнификатора за хидролизу одабраног пољопривредног отпада; (6) испитивање утицаја моно- и ко-културе најефикаснијег делигнификатора и најефикаснијег продуцента целулаза на динамику активности лигноцелулолитичких ензима.

Поглавље **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** садржи пет потпоглавља. У првом потпоглављу представљене су тестиране врсте и сојеви макро- и микромицета, њихово порекло и начин култивације. У другом потпоглављу, које се састоји из 4 целине, описане су коришћене методе. У првој целини су описани поступци припреме инокулума макромицета, услови култивације на одабраном биљном отпаду и екстракција лигнинолитичких ензима, док је у другој целини описан начин припреме суспензије спора

микромицета коришћених за инокулацију претретираног лигноцелулозног супстрата, затим услови култивације, као и екстракција целулолитичких ензима. У трећој и четвртој целини описане су методе спектрофотометријског одређивања активности одабраних лигнинолитичких и целулолитичких ензима на одговарајућим таласним дужинама коришћењем специфичних супстрата за одређене ензиме. Наредно потпоглавље описује одређивање садржаја укупних протеина. У четвртом потпоглављу, приказане су аналитичке процедуре за квантитативну анализу садржаја хемицелулозе, целулозе и лигнина у биљном отпаду. На крају је представљен опис статистичке обраде података коришћењем параметарске статистичке анализе (ANOVA и Tukey HSD post-hoc test) у програму STATISTICA, verzija 6 (StatSoft, Inc. 2001).

У поглављу **РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА**, кандидаткиња је резултате систематизовала у три потпоглавља и на адекватан начин их приказала, тумачила и дискутовала поредећи их са савременим научним сазнањима у овој области и истакла могућност њихове примене. Цитирана је релевантна литература и дати су могући правци будућих истраживања.

У првом потпоглављу, које се састоји из три целине, одређен је потенцијал 10 врста макромикета да деполимеризују 8 врста лигноцелулозног отпада и окарактерисана су три лигнинолитичка ензима одговорна за делигнификацију супстрата. Такође, одређен је и потенцијал 4 врсте микромицета да минерализују отпад који је био најоптималнији за продукцију лигнинолитичких ензима. У првој целини су представљени резултати који су показали значајне интерспецијске разлике у карактеристикама Mn-оксидујућих пероксидаза и лаказа код одабраних макромикета при култивацији на различитим биљним супстратима. Добијени резултати су приказани графички (3) и сликом (1). Такође, у оквиру ове целине кандидаткиња је представила резултате који су показали јасну условљеност степена деполимеризације врстом гљиве и типом лигноцелулозног отпада. Резултати су приказани табеларно (1). Најоптималнији супстрат за синтезу лигнинолитичких ензима је била пшенична слама, а врсте рода *Pleurotus* су се показале најефикаснијим продуцентима ових ензима, као и високо ефикасним и селективним разлагачима тестираног биљног отпада. У другој целини је описана значајна интер- и интраспецијска варијабилност у карактеристикама Mn-оксидујућих пероксидаза и лаказа код врста/сојева гљива белог труљења које до сада нису довољно проучене, као и њихов капацитет разградње пшеничне сламе (као одабраног супстрата из претходне фазе), који се такође разликовао од врсте до врсте. Резултати су представљени графички (3), сликом (1) и табеларно (1). Забележено је да се *Pleurotus pulmonarius* HAI 573 показао високо ефикасним и селективним деградером пшеничне сламе (50,4% лигнина; 3,8% целулозе и 15,3% хемицелулозе). Последња целина описује потенцијал 4 врсте микромицета да деполимеризују пшеничну сламу. Резултати су јасно показали да се тестиране врсте разликују у профилима лигнинолитичких ензима, динамици њихове продукције и нивоима активности, затим да имају различиту способност деполимеризације овог супстрата и различит степен селективности разградње полимера. Добијени резултати су представљени графички (2).

Резултати другог потпоглавља су представљени у три целине које описују целулолитички потенцијал одабраних врста гљива. Прва целина описује динамику активности целулаза *Trichoderma viridae* BEOFB 1210m култивисаној на пшеничној слами

претретираној са *Pleurotus pulmonarius* HAI 573. Забележена је значајна разлика у динамици синтезе и активности тестираних целулолитичких ензима који су синтетисани током чврсте ферментације овог супстрата. Резултати, који су приказани графички (1) су показали да су тестирани целулолитички ензими били најактивнији на почетку ферментационог периода. Такође, резултати који су представљени табеларно (1) су показали да је *T. viridae* ВЕОФВ 1210m била добар деградер претретиране пшеничне сламе са различитом ефикасношћу минерализације њених полимера. Забележено је и благо смањење концентрације лигнина што указује и на извесни лигнинолитички потенцијал ове микромицете. У другој целини представљени су резултати активности целулолитичких ензима одабраних 5 врста микромицета након ферментације пшеничне сламе и пиљевине храста претретираних са *P. pulmonarius* HAI 573. Анализом добијених резултата, представљених графички (2), види се да је пшенична слама била далеко повољнији супстрат од пиљевине храста за синтезу тестираних ензима. Такође, јасно је уочљив интерспецијски диверзитет у активности продукованих целулаза при ферментацији оба тестирана супстрата. Табеларно (1) је представљен степен деполимеризације претретиране пшеничне сламе и пиљевине храста одабраним врстама микромицета, при чему је *Trichoderma harzianum* ВЕОФВ 1230m била високо ефикасан минерализатор целулозе (23,9%) и хемицелулозе (33,0%) пшеничне сламе. У трећој целини је графички (1) показан изузетан целулолитички потенцијал тестираних врста рода *Pleurotus* током ферментације одабраног пољопривредног отпада (пиљевина винове лозе, шљиве и малине). *Pleurotus eryngii* HAI 1017 и *P. pulmonarius* HAI 509 су синтетисали све тестиране целулолитичке ензиме током 21 дана ферментације одабраних супстрата, при чему се *P. pulmonarius* HAI 509 показао као апсолутно доминантан у продукцији ових ензима.

У последњем потпоглављу, кандидаткиња је представила резултате различитог утицаја моно- и ко-култивације *T. harzianum* ВЕОФВ 1230m (као најефикаснијег продуцента целулаза) и *P. pulmonarius* HAI 573 (као најефикаснијег делигнификатора) као и дужине култивације на синтезу лигноцелулолитичких ензима. Резултати су представљени графички (4). У поређењу са моно-културама *P. pulmonarius* HAI 573 и *T. harzianum* ВЕОФВ 1230m, резултати јасно показују да је њихова ко-култивација на пшеничној слами стимулисала синтезу лигноцелулолитичких ензима и ефикасност сахарификације супстрата. Такође, забележене су максималне активности целулаза 14. дана ко-култивације ових врста, а количина редукујућих шећера продукованих у ко-култури је била значајно већа од оних у њиховим моно-културама.

У поглављу **ЗАКЉУЧЦИ** кандидаткиња изводи закључке на основу чињеница изложених у потпоглављима резултата а у складу са постављеним циљевима дисертације. Наиме, констатовано је да својства тестираних лигнинолитичких ензима првенствено зависе од проучаваних врста гљива, као и врсте лигноцелулозног отпада коришћеног као супстрат. Закључено је да су врсте рода *Pleurotus* најефикаснији продуценти свих проучаваних ензима на већини тестираних супстрата. Поред тога, забележена је и значајна интерспецијска варијабилност у деполимеризацији тестираних лигноцелулозних остатака. Кандидаткиња наводи значајан интер- и интраспецијски диверзитет у активности лигнинолитичких ензима и деградацији пшеничне сламе, као најоптималнијег супстрата, код врста/сојева гљива белог труљења које до данас нису довољно проучене. Закључено је да су лаказе доминантни ензими код проучаваних врста, а *Pleurotus pulmonarius* HAI 573 најефикаснији и најселективнији делигнификатор пшеничне сламе. С друге стране,

кандидаткиња констатује да тестиране врсте микромицета нису показале значајан лигнинолитички потенцијал током ферментације интактне пшеничне сламе. Даље се наводе значајне разлике у динамици синтезе и активности тестираних целулолитичких ензима код *T. viride* ВЕОФВ 1210m током чврсте ферментације пшеничне сламе претретиране са *P. pulmonarius* НАИ 573, при чему је највећа активност ових ензима забележена на почетку ферментационог процеса а ксиланазе се истичу као доминантни ензими. Такође, у поређењу са пиљевином храста, закључено је да је пшенична слама била оптималан супстрат за синтезу високо активних форми целулаза и код других проучаваних микромицета. Поред тога што се показала одличним продуцентом целулаза, *T. harzianum* ВЕОФВ 1230m се наводи и као високо ефикасан минерализатор целулозе и хемицелулозе пшеничне сламе. Кандидаткиња наводи изузетан целулолитички потенцијал врста рода *Pleurotus* током ферментације високо заступљеног пољопривредног отпада у Србији (пиљевина винове лозе, шљиве и малине). На крају, закључено је да је ко-култивација *T. harzianum* ВЕОФВ 1230m (као најефикаснијег продуцента целулаза) и *P. pulmonarius* НАИ 573 (као најефикаснијег делигнификатора) на пшеничној слами стимулисала продукцију лигноцелулолитичких ензима, као и ефикасност сахарификације супстрата. Истиче се постојање компатибилности тестираних врста што представља одлучујући фактор за успешност ферментације у условима ко-култивације и даље за исплативост процеса добијања биоетанола. Такође се наводи да је количина редукујућих шећера продукованих у ко-култури значајно већа од оних у њиховим моно-културама што је још један важан фактор у процесу добијања биоетанола.

Поглавље **ЛИТЕРАТУРА** садржи 269 библиографских јединица из међународних и домаћих извора. Литературни извори су адекватно одабрани, правилно и на одговарајућим местима цитирани у тексту докторске дисертације.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. Ćilerdžić, J., **Galić, M.**, Vukojević, J., Brčeski, I., Stajić, M. (2017). Potential of selected fungal species to degrade wheat straw, the most abundant plant raw material in Europe. *BMC Plant Biology*, 17(2): 75-81. **M21**
Link: <https://bmcplantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12870-017-1196-y>
2. **Galić, M.**, Stajić, M., Ćilerdžić, J. (2020). *Hypsizygus marmoreus*-A novel potent degrader of lignocellulose residues. *Cellulose Chemistry and Technology*, 54(9-10): 977-982. **M22**
Link: [https://www.cellulosechemtechnol.ro/pdf/CCT9-10\(2020\)/p.977-982.pdf](https://www.cellulosechemtechnol.ro/pdf/CCT9-10(2020)/p.977-982.pdf)
3. **Galić, M.**, Stajić, M., Vukojević, J., Ćilerdžić, J. (2020). Capacity of *Auricularia auricula-judae* to degrade agro-forestry residues. *Cellulose Chemistry and Technology*, 54(1-2): 179-184. **M22**
Link: [https://www.cellulosechemtechnol.ro/pdf/CCT1-2\(2020\)/p.179-184.pdf](https://www.cellulosechemtechnol.ro/pdf/CCT1-2(2020)/p.179-184.pdf)

4. **Galić, M.**, Ćilerdžić, J., Vukojević, J., Stajić, M. (2021). Agro-forestry residues valorization by ligninosome of *Grifola frondosa*. Wood Research, 66(4): 657-665. **M22**
Link: <http://www.woodresearch.sk/cms/agro-forestry-residues-valorization-by-ligninosome-of-grifola-frondosa/>
5. **Galić, M.**, Ćilerdžić, J., Vukojević, J., Stajić, M., Brčeski, I. (2018). Potential of selected micromycetes for wheat straw degradation. Journal of Environmental Protection and Ecology, 19(3): 1116-1122. **M23**
Link: http://www.jepe-journal.info/journal-content/vol-19-no-3/JEPE_2018_1116.pdf

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Galić, M.**, Ćilerdžić, J., Vukojević, J., Stajić, M. (2018): Delignification of the most common agricultural plant residues by *Pleurotus pulmonarius*. 7th Balkan Botanical Congress, Novi Sad, Serbia, 10-14 September. Book of abstracts:154. **M34**

Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидаткиње **Милице М. Галић**, број индекса **Е3045/2015**, под насловом „Потенцијал лигноцелулолитичких гљива за разлагање биљног отпада и добијање биоетанола”, подвргнута је електронској провери обима и садржине подударана текста са текстовима који су Универзитетској библиотеци „Светозар Марковић” доступни за поређење. Извештај који садржи резултате провере оригиналности ментор је добио дана **21.08.2021.** године.

Резултати електронске провере ове докторске дисертације показују да **индекс подударности износи 11%**. Увидом у Извештај утврђено је да су готово сва уочена појединачна подударана у опсегу мањем од 1% и највећим делом се односе на стандардно присутне делове докторских дисертација (имена врста, скраћенице, лична имена, библиографске податаке о коришћеној литератури, навођење назива институција, звања чланова комисије, називе поглавља и слично) и последица су претходно публикованих резултата истраживања проистеклих из докторских дисертација из исте научне области.

Када се све изнето узме у обзир, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидаткиње **Милице М. Галић**, под насловом „Потенцијал лигноцелулолитичких гљива за разлагање биљног отпада и добијање биоетанола”, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација кандидаткиње **Милице М. Галић**, број индекса **Е3045/2015**, под насловом „**Потенцијал лигноцелулолитичких гљива за разлагање биљног отпада и добијање биоетанола**” представља оригиналну и савремено урађену научну студију из области микологије. По свом садржају, оригиналности резултата, начину њиховог представљања и интерпретацији, уз осврт на релевантну, обимну и савремену литературу, представљени текст има све одлике квалитетне докторске дисертације.

Комисија сматра да ова докторска дисертација представља опсежну студију о познавању лигноцелулолитичког система великог броја врста гљива. Представљена висока ефикасност и селективност различитих врста гљива у разградњи отпада из пољопривреде и шумарства може бити од изузетног значаја у процесу њихове конверзије у биоетанол. Посебан допринос креирању система за добијање биоетанола је показан на примеру ко-култивације гљиве изазивача белог труљења и целулолитичке врсте. Поред одговора на постављене циљеве истраживања, кандидаткиња на основу резултата вишегодишњих проучавања указује и на смернице за будућа истраживања у овој области.

Имајући у виду све наведено, Комисија за преглед и оцену докторске дисертације позитивно оцењује докторску дисертацију кандидаткиње **Милице М. Галић** под насловом „**Потенцијал лигноцелулолитичких гљива за разлагање биљног отпада и добијање биоетанола**” и са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да **прихвати Извештај и одобри јавну одбрану** ове докторске дисертације.

КОМИСИЈА:

У Београду, 13.09.2021. године

Др Мирјана Стајић, редовни професор
Биолошки факултет Универзитета у Београду

Др Јасмина Ћилерџић, виши научни сарадник
Биолошки факултет Универзитета у Београду

Др Илија Брчески, ванредни професор
Хемијски факултет Универзитета у Београду

Др Јелена Вукојевић, редовни професор
Биолошки факултет Универзитета у Београду