

КОМИСИЈА ЗА ПРЕГЛЕД И ОЦЕНУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ КАНДИДАТА:
Слободан Стефановић

УНИВЕРЗИТЕТ МЕТРОПОЛИТАН
ФАКУЛТЕТ ЗА ПРИМЕЊЕНУ ЕКОЛОГИЈУ ФУТУРА
Веће департмана за последипломске студије

Одлуком Сената Универзитета Метрополитан број ј 16-10-00349/9 донетој на седници одржаној 05.07.2023 године, одређени смо за чланове Комисије за преглед и оцену докторске дисертације кандидата **Слободана Стефановића** под називом **"Детерминација биоразградивих система аутохтоних врста гљива у циљу процене микоремедијационих потенцијала"** о чему подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

1. Основни подаци о кандидату и докторској дисертацији

Кандидат Слободан Стефановић је рођен 14.02.1980. године у Београду. Завршио је основну школу „14. октобар“ у Баричу, а потом „Гимназију у Обреновцу“, природно-математичког смера. Дипломирао је на Биолошком факултету Универзитета у Београду 2010. године са просечном оценом 9,26 и стекао звање дипломирани биолог. Докторске академске студије Одрживи развој и животна средина уписао је 2013. године на Факултету за примењену екологију Футура Универзитета Сингидунум.

По завршетку студија на Биолошком факултету радио је као наставник биологије на замени у већем броју основних и средњих школа. Од марта 2016. године запослен је на Факултету за примењену екологију Футура у звању асистент. Као асистент учествује у реализацији вежби на предметима Основних академских студија: Заштита биодиверзитета, Заштита и унапређење природних добара, Заштита и унапређење шумских и ловних ресурса, Очување и унапређење урбаних екосистема, Природне вредности и ресурси и Основи методологије. У академској 2016/2017. години учествовао је и у реализацији вежби на предметима Загађивање и заштита вода и Екологија микроорганизама на Основним академским студијама и Микробиологија екосистема на Мастер академским студијама. Почетком 2017. године обављао је функцију координатора мастер академских студија ФПЕ Футура.

Изабран је у звање истраживач-сарадник 10.02.2022. године на Институту за мултидисциплинарна истраживања Универзитета у Београду. Учествовао је у реализацији више пројеката међу којима су најзначајнији „Екоремедијација деградираних простора продукцијом агроенергетских усева“, ТР 31078, научни пројекат финансиран од стране Министарства науке, просвете и технолошког развоја (истраживач у периоду од новембра 2016. до децембра 2019.) и „Evaluation of the Microplastic in the Soils of Serbia - EMIPLAST-SoS“ 7742318, финансиран од стране Фонда за науку Републике Србије, у оквиру програма ИДЕЈЕ, а чија реализација је у току почев од јануара 2022. године.

Слободан Стефановић је објавио 16 научно-стручних радова, од чега су 2 рада објављена у међународним часописима са СЦИ листе.

Кандидат има следећи објављени рад категорије M23 са резултатима из истраживања за докторски рад чиме је испуњен предуслов за одбрану докторске дисертације:

Stefanović, S., Dragišić Maksimović, J., Maksimović, V., Bartolić, D., Djikanović, D., Simonović Radosavljević, J., Mutavdžić, D., Radotić K., Marjanović, Ž. (2023): Functional differentiation of two autochthonous cohabiting strains of *Pleurotus ostreatus* and *Cyclocybe aegerita* from Serbia in lignin compound degradation, *Botanica Serbica*, 47(1): 135–143. <https://doi.org/10.2298/BOTSERB2301135S>

Преостали објављени радови кандидата:

M23 – Rad u međunarodnom časopisu

Šekler, I., Vještica, S., Janković, V., **Stefanović, S.**, Ristić, V. (2021): *Miscanthus x giganteus* as a building material - lightweight concrete, *Hem.Ind.*75(3), 147-154. <https://doi.org/10.2298/HEMIND201116013S>

M33 – Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini

Mandić, R., Bartula, M., **Stefanović, S.**, Milošević, N. (2021): Negativan uticaj minihidroelektarana na biodiverzitet, *Zbornik radova III simpozijuma: Zaštita agrobiodiverziteta i očuvanje autohtonih rasa domaćih životinja*, Srpsko veterinarsko društvo, Beograd, 235-242. UDC: 005.334+621.311.21+334.012.64:574.1, ISBN: 978-86-83115-42-6

Dražić, G., Milovanović, J., **Stefanović, S.**, Petrić, I., (2018): Potential of *Miscanthus x giganteus* for Heavy Metals Removing from Industrial Deposol, International Scientific Conference „Fast growing trees and plants growing for energy purposes“, Faculty of European Studies and Regional Development Slovak Agricultural University in Nitra, Slovakia. September 7-8, 2017. *Acta Regionalia et Environmentalica*, 14(2), pp. 56-58, 7. - 8. Sep, 2017.

M34 – Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu

Knežević, G., Stamenković, B., **Stefanović, S.**, Milošević, N., Vukašinić, M. (2018): Biološki monitoring cijanobakterija u akumulaciji Vrutci, *Zbornik apstrakata – XII Kongres mikrobiologa Srbije sa međunarodnim učešćem – MIKROMED 2018 REGIO*, Beograd, ISBN: 978-86-914897-5-5, 200-201.

M45 – Poglavlje u knjizi M42 ili rad u tematskom zborniku nacionalnog značaja

Stefanović, S. (2021): Invazivne vrste – uzroci i posledice širenja invazivnih vrsta. U: Bartula, M. (ur.), *Upravljanje invazivnim vrstama - studija slučaja Zasavica*, Fakultet za primenjenu ekologiju Futura, Beograd. Str. 1-18. ISBN 978-86-86859-69-3 [COBISS.SR-ID 56407305]

M51 – Rad u vrhunskom časopisu nacionalnog značaja

Stefanović, S., Kostić, M., Milošević, D., Dražić G., (2016): Uticaj korovske vegetacije na prinos miskantusa (*Miscanthus x giganteus*) na jalovini RB Kolubara Tamnava istok, *Ecologica*, Vol. 23, No 81, pp. 106-111. UDC: 504.53.062:622

M52 – Rad u istaknutom nacionalnom časopisu

Vukin, M., Babić, V., Kanjevac, B., **Stefanović, S.** (2022): Značaj klime i sanitarno-higijenskih efekata šuma – Case Study: Buduće klimatsko lečilište Kušići. *Šumarstvo*, 3-4. pp. 203-230.

M63 – Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u celini

Stefanović, S., (2016): Mikoremedijacija zagađenog zemljišta pomoću gljiva bele truleži, *Zbornik radova - Konferencija "Ekološke i socijalne inovacije: Izazovi primenjenih nauka"*, Fakultet za primenjenu ekologiju Futura, Beograd, pp. 70-74. ISBN: 978-86-86859-50-1, Beograd, 03. - 04. Jun 2016.

Stefanović, S., (2016): Mikoremedijacija otpadnih voda kontaminiranih fekalnim koliformnim bakterijama, *Zbornik radova – Nacionalna konferencija sa međunarodnim učešćem "Inovacioni modeli ekosistemskog inženjerstva"*, Fakultet za primenjenu ekologiju Futura, Beograd, pp. 22-28. ISBN: 978-86-86859-54-9, Beograd, 08. Okt. 2016.

Petrić, I., Dražić, G., Antonijević, D., **Stefanović, S.**, Božić, N., (2017): Potencijali *Miscanthus x giganteus*-a u funkciji održivog razvoja, Regionalna konferencija Industrijska energetika i zaštita životne sredine u zemljama Jugoistočne Evrope, IEEP17, Zbornik radova, Društvo termičara Srbije CIP 620.9(082)(0.034.2) 502/504(082)(0.034.2), ISBN 978-86-7877-

028-9, rad 021. Zlatibor, 21. - 24. Jun 2017.

Aleksić, J., Dražić, G., Milošević, N., **Stefanović, S.** (2017): Brownfield investicioni program, *Zbornik radova - Nacionalna konferencija sa međunarodnim učešćem "Brownfield investicione lokacije – ekoremedijacioni modeli i ekonomska valorizacija"*, Fakultet za primenjenu ekologiju Futura, Beograd, pp. 65-69. ISBN: 978-86-86859-56-3, Kraljevo, 2017.

Stefanović, S., Šekler, I., Dražić, G., (2018): *Miscanthus x giganteus* u funkciji održivosti prečistača vode baziranih na fitoremedijaciji, *Zbornik radova - Nacionalna konferencija sa međunarodnim učešćem „Ekoremedijacija i ekonomska valorizacija vodnih resursa – modeli i primena“*, Fakultet za primenjenu ekologiju Futura, Beograd, pp. 92-97. ISBN: 978-86-86859-57-0, Beograd, 04. - 05. Okt. 2018.

Knežević, G., Knežević, A., **Stefanović, S.**, Milošević, N., Rikalović, M., (2018): Uticaj internog opterećenja akvatičnih ekosistema na cvetanje *Planktothrix rubescens*, *Zbornik radova - Nacionalna konferencija sa međunarodnim učešćem „Ekoremedijacija i ekonomska valorizacija vodnih resursa – modeli i primena“*, Fakultet za primenjenu ekologiju Futura, Beograd, pp. 63-67. ISBN: 978-86-86859-57-0, Beograd, 04. - 05. Okt. 2018.

Stefanović, S. (2019): Problem otpada od drveta impregniranog kreozotom i mogućnosti mikoremedijacije, *Zbornik radova nacionalne konferencije sa međunarodnim učešćem "Ekoremedijacija - inovacije, ekonomski aspekti i implementacija u praksi"*, Fakultet za primenjenu ekologiju Futura, Beograd, pp. 13-17. ISBN 978-86-86859-58-7, Beograd, 15. Nov., 2019.

M66 – Uređivanje zbornika saopštenja skupa nacionalnog značaja

Drašković, B. (urednik), **Stefanović, S.** (urednik) (2019): *Zbornik radova Nacionalne konferencije sa međunarodnim učešćem Ekoremedijacija - inovacije, ekonomski aspekti i implementacija u praksi, 15.11.2019. Beograd.* Beograd: Fakultet za primenjenu ekologiju Futura, Univerzitet Singidunum, 93 str., ilustr. ISBN 978-86-86859-58-7. [COBISS.SR-ID [512598626](#)]

M123 – Studija i analiza javne politike koja je prihvaćena na odgovarajućem naučnom/nastavno-naučnom veću

Bartula, M., Vakanjac, B., Krstić, B., Mandić, R., **Stefanović, S.** (2022): *Izveštaj o strateškoj proceni uticaja Strategije uticaja klimatskih promena na interakciju ekosistemskih usluga u korišćenju i upravljanju šumskim resursima Beograda.* Fakultet za primenjenu ekologiju Futura, Beograd. Naručilac: Grad Beograd.

Докторска дисертација кандидата **Слободана Стефановића** је урађена на укупно 123 стране, од чега 19 страна чине прилози и списак литературе. Списак литературе обухвата 172 референце које чине научни радови, књиге, зборници радова, као и електронски извори. Уз основни текст дисертација садржи и 17 слика, 2 табеле и 15 графикана.

Докторска дисертација кандидата **Слободана Стефановића** је била подвргнута провери софтвером за установљавање преклапања/плагијаризма (iThenticate Plagiarism Detection Software, Универзитетска библиотека "Светозар Марковић"). Укупан процентуални износ запажених преклапања износи 5% дисертације. Након обављене провере установљено је да не постоје области и садржаји текста који се могу разумети као плагирање.

2. Предмет и циљеви истраживања

Глобални економски развој подстакнут индустријском и аграрном револуцијом довео је до пораста међународне размене роба и услуга и тиме значајно допринео порасту квалитета живота људи, али и до драматичног пораста притиска на животну средину, пре свега кроз прекомерно експлоатисање природних ресурса и генерисање загађења. Процењује се да се годишње у свету произведе око 500 милиона тона различитих хемикалија, а значајан проценат тих хемикалија или њихових интермедијера заврши у животној средини. Многе од тих хемикалија су токсичне и перзистентне, па представљају дугорочну опасност за човека и друге живе организме, али се многе од ових хемикалија у одговарајућим условима могу разградити природним процесима.

Термином екоремедијација обухваћене су биотехнологије које имају за циљ да обезбеде услове у којима се могу интензивирати ти природни процеси и тако доведе до убрзаног уклањања загађујућих материја у животној средини. Екоремедијација се базира на способностима разградње полутаната од стране живих организама и у прошлости су у фокусу истраживања у овој области биле пре свега биљне врсте (фиторемедијација) и бактерије (биоремедијација) и крајњи исход ових истраживања су бројни позитивни примери примене ових организама у пракси. Знатно мање пажње је посвећено гљивама. С обзиром да гљиве имају кључну улогу у разградњи органске материје и уопште у кружењу материје у екосистемима, оправдана су очекивања да управо ови организми могу имати изузетан значај и широку примену у третману најперзистентнијих загађујућих материја, а што потврђују и досадашња истраживања.

Микоремедијација је биотехнологија која се базира на метаболичком капацитету гљива да својим ензимима деградирају различите полутанте у животној средини. Посебно велики потенцијал за употребу у процесима микоремедијације имају врсте гљива изазивача беле трулежи које воде сапрофитски начин живота. Ове гљиве најчешће расту

на дрвету и имају способност разградње лигнина, који је поред целулозе главна компонента дрвене масе. Активност ових гљива подразумева пре свега преференцију ка разградњи лигнина услед које на дрвету заостају светлије зоне од неразграђене целулозе, па су по томе и добиле име. Биодеградација лигнина посредована овим организмима се заснива на активности екстрацелуларних ензима, као што су лигнин-пероксидазе, манган-пероксидазе и лаказе. Захваљујући овим ензимима гљиве изазивачи беле трулежи врло ефикасно врше делигнификацију лигноцелулозне биомасе, па се могу применити у различитим биотехнолошким процесима у производњи биогорива и различитих хемикалија у хемијској индустрији, текстилној индустрији, производњи папира, третману отпадних вода, итд.

Гљиве изазивачи беле трулежи су у досадашњим истраживањима показале изузетну способност разградње различитих органских полутаната. Поменути ензими се одликују веома малом специфичношћу према супстрату, па лако разграђују различита једињења која су структурно делимично слична лигнину. Управо тој групи једињења структурно сличних лигнину припадају неке од најзначајнијих и најзаступљенијих перзистентних органских загађујућих материја у животној средини као што су полициклични ароматични угљоводоници, полихлоровани бифенили, диоксини и други.

Предмет истраживања докторске дисертације су аутохтоне врсте гљива изазивача беле трулежи. За потребе истраживања набављене су мицелије седам врста гљива пореклом из равничарских шума Републике Србије: *Cyclocybe aegerita*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Ganoderma resinaceum*, *Lentinus tigrinus*, *Pleurotus ostreatus* и *Trametes versicolor*. Са овим врстама су урађени пробни тестови у којима је праћен раст и развој мицелија и продукција лигнинолитичких ензима. Након ових прелиминарних испитивања селектоване су две врсте са којима су обављена истраживања у циљу израде докторске дисертације, а то су аутохтони сојеви врста *Cyclocybe aegerita*, јаблановача и *Pleurotus ostreatus*, буковача.

Приликом формулисања теме и предмета истраживања докторске дисертације дефинисани су следећи **циљеви истраживања**:

1. Молекуларна детерминација аутохтоних дрворазграђујућих врста гљива које потичу из равничарских шума Србије;
2. Детерминација услова под којима изоловане мицелије гљива успешно расту на чврстим и течним експерименталним подлогама;
3. Детерминација услова под којима мицелије истраживаних врста гљива изазивача беле трулежи продукују ефикасне ензиме који су укључени у разградњу биљне биомасе у присуству различитих компоненти биомасе различитих врста дрвенастих биљака;

4. Испитивање могућности да се ови протоколи примене у пракси;
5. Коначни циљ је процена микоремедијационих потенцијала одабраних аутохтоних врста гљива изазивача беле трулежи.

3. Хипотетички оквир истраживања

Генерална хипотеза:

Врсте гљива изазивача беле трулежи које ће бити предмет истраживања докторске дисертације ће поседовати ензимске системе за разлагање лигноцелулозне биомасе који ће моћи да се примењују у микоремедијационим процесима.

Посебне хипотезе:

1. Ензимски ситеми различитих гљива изазивача беле трулежи ће се разликовати квалитативно, као и по својој ефикасности.
2. Продукција ензима ће зависити од састава експерименталних медијума на којима гљиве изазивачи беле трулежи буду расле.
3. Испитиване врсте гљива ће моћи у пракси да се користе за елиминацију различитих органских једињења и полутаната.

4. Методологија истраживања

Приликом израде докторске дисертације примењен је већи број научних метода. У научном истраживању, формулисању и приказивању резултата истраживања коришћене су методе анализе, синтезе, компарације, индукције и дедукције, анализирана је доступна академска литература и други извори информација.

Приликом израде докторске дисертације вршена су следећа научна истраживања:

- изолација и узгој мицелија гљива на различитим хранљивим подлогама и медијумима;
- изолација и анализа ДНК мицелија гљива у циљу потврде детерминације врста;
- постављање експеримента у ком су мицелије гљива гајене на течној минералној подлози уз додатак различитих деградационих продуката биомасе (пиљевина од три различите врсте дрвета, изоловани ћелијски зидови, полимер кониферил алкохола - дхп);

- узорковање и припрема узорака течне подлоге на којој су гајене мицелије гљива (филтрација на вакуум пумпи, центрифугирање, лиофилизација);
- анализа активности лигнинолитичких ензима (лигнин-пероксидазе, манган-пероксидазе и лаказе);
- анализа садржаја лигнина, укупног садржаја фенола и укупног антиоксидативног капацитета;
- анализа фенолних продуката деградације различитих супстрата (ХПЛЦ методом);
- статистичка обрада резултата истраживања.

5. Кратак приказ садржаја докторске дисертације

Докторска дисертација се састоји од 10 поглавља. Прва 4 поглавља дисертације чине општи теоријски део дисертације, док су остала поглавља посвећена експерименталном истраживању.

У првом поглављу је дат осврт на проблем загађивања животне средине, преглед најчешћих загађујућих органских материја и могућности ремедијације применом различитих зелених биотехнологија. Ова уводна разматрања пружају контекст и разумевање позиције микоремедијације међу зеленим биотехнологијама.

У другом поглављу дат је преглед досадашњих истраживања у области микоремедијације, као и разматрање могућности практичне примене ове биотехнологије.

Треће поглавље је посвећено карактеристикама гљива изазивача беле трулежи и њиховим стратегијама и механизмима деградације лигноцелулозне биомасе. Такође су дати опис и основне еколошке карактеристике гљива које су селектоване за експериментална истраживања докторске дисертације.

Четврто поглавље је посвећено лигнинолитичким ензимима гљива изазивача беле трулежи, посебно су описани ензими лаказа, манган пероксидаза, лигнин пероксидаза и верзатилна пероксидаза, као и механизми њихове активности и способност деградације различитих лигнинских компоненти.

У петом поглављу су наведени предмет и циљеви истраживања, као и хипотетички оквир истраживања.

У шестом поглављу, материјал и методе, детаљно је описано који су материјали коришћени у истраживању, дат је детаљан опис дизајна експеримента и наведени су протоколи вршених испитивања – анализа активности 3 лигнинолитичка ензима, мерење

укупног садржаја лигнина, укупног садржаја фенолних једињења, укупног антиоксидативног капацитета и анализа фенолних једињења ХПЛЦ методом.

У седмом поглављу приказани су резултати спроведених истраживања и дата је дискусија добијених резултата.

У осмом поглављу је дат закључак истраживања.

У деветом поглављу наведена је сва коришћена стручна литература.

У десетом поглављу наведени су прилози – попис слика, графикана и табела.

6. Постигнути резултати и научни допринос докторске дисертације

Научни допринос докторске дисертације се пре свега базира на истраживањима аутохтоних врста гљива. Истраживања у области микоремедијације, а посебно микоремедијационих потенцијала аутохтоних врста гљива су малобројна у Републици Србији, па се ова истраживања могу сматрати пионирским. У овом истраживању су поређена два аутохтона соја гљива изазивача беле трулежи, *Cyclocybe aegerita* Ser 1 и *Pleurotus ostreatus* Ser 1, пореклом из равничарских шума Србије, у циљу процене њихових микоремедијационих потенцијала. Према резултатима који су добијени може се констатовати да су обе врсте истраживаних гљива у експерименталним условима продуковале ефикасне ензиме који имају улогу у разградњи лигноцелулозне биомасе, али могу се запазити изузетно велике квалитативне и квантитативне разлике у активности продукованих лигнинолитичких ензима. У експерименталним третманима са врстом *Pleurotus ostreatus*, забележена је већа деградација фенолних једињења, као и веома брза деполимеризација лигнина. На основу свих добијених резултата може се закључити да врста *Pleurotus ostreatus* може ефикасно да разграђује различита ароматична једињења у кратком временском периоду, што јасно указује да ова врста, за разлику од врсте *Cyclocybe aegerita*, има веома висок микоремедијациони потенцијал.

Научни допринос докторске дисертације се огледа и кроз верификовање и проширивање досадашњих сазнања о ензиматским системима гљива који су укључени у разградњу лигноцелулозне биомасе. Резултати до којих се дошло у току истраживања представљају основу за даља истраживања у овој области и потенцијално за развој модела и протокола који се могу применити у пракси за решавање одређених проблема у животној средини, па према томе они имају и друштвени значај.

7. Мишљење и предлог Комисије о докторској дисертацији

На основу свега изложеног Комисија је мишљења да докторска дисертација кандидата **Слободана Стефановића** по својој теми, приступу, структури и садржају рада, квалитету и начину излагања, методологији истраживања, начину коришћења литературе, релевантности и квалитету спроведеног истраживања и донетим закључцима задовољава критеријуме захтеване за докторску дисертацију, те се може прихватити за јавну одбрану.

Сагледавајући укупну оцену докторске дисертације кандидата **Слободана Стефановића** под називом "**Детерминација биоразградивих система аутохтоних врста гљива у циљу процене микоремедијационих потенцијала**" предлажемо Већу департмана за последипломске студије и Сенату Универзитета Метрополитан да прихвати напред наведену докторску дисертацију и одобри њену јавну одбрану.

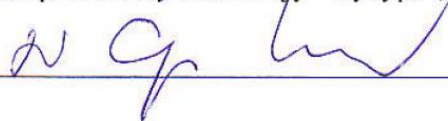
У Београду, 10.07.2023. године

Чланови комисије

др Жаклина Марјановић, научни саветник,
Универзитет у Београду, Институт за мултидисциплинарна истраживања, ментор



др Витомир Ћупић, редовни професор,
Универзитет Метрополитан, Факултет за примењену екологију "Футура", члан



др Мирјана Бартула, ванредни професор,
Универзитет Метрополитан, Факултет за примењену екологију "Футура", члан

