

# УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

## ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

### ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ кандидата Љиљане Н. Јањушевић

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>
<p>1. Датум и орган који је именовео комисију <b>13.07.2017. год., седница Наставно-научног већа Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду</b></p> <p>2. Састав комисије са знаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <p><b>др Петар КНЕЖЕВИЋ</b>, ванредни професор, ужа научна област: <i>Микробиологија</i>, датум избора: 01.07.2015. год., Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, <b>председник</b>.</p> <p><b>др Маја КАРАМАН</b>, ванредни професор, ужа научна област: <i>Микробиологија</i>, датум избора: 15.05.2015. год., Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, <b>ментор</b>.</p> <p><b>др Борис ПЕЈИН</b>, научни сарадник (у процедури избора у научног саветника), ужа научна област: <i>Органска хемија (Хемија природних производа и Медицинска хемија)</i>, Институт за мултидисциплинарна истраживања – IMSI, Универзитет у Београду, <b>ментор</b>.</p> <p><b>др Станислава ГОРЈАНОВИЋ</b>, научни саветник, ужа научна област: <i>Биохемија</i>, датум избора: 21.12.2016. год., Институт за општу и физичку хемију – IOFH, Београд, <b>члан</b>.</p> <p><b>др Соња КАИШАРЕВИЋ</b>, ванредни професор, ужа научна област: <i>Физиологија животиња</i>, датум избора: 01.01.2017. год., Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, <b>члан</b>.</p> <p><b>др Александра НОВАКОВИЋ</b>, научни сарадник, ужа научна област: <i>Технологија биљних производа, Квалитет и безбедност хране биљног порекла</i>, датум избора: 06.07.2016. год., Научни институт за прехранбене технологије – FINS, Универзитет у Новом Саду, <b>члан</b>.</p>
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: <b>Љиљана, Недељко, Јањушевић</b></p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: <b>27.08.1984. год., Прњавор, Република Босна и Херцеговина</b></p>

3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив

**Природно-математички факултет Универзитета у Новом Саду,  
Депарتمان за биологију и екологију, дипломске академске – мастер студије,  
мастер биолог, модул: Микробиологија**

4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија

**2010. год., Доктор наука – Биолошке науке**

5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране:

–

6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:

–

### III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

**"Биолошка активност и хемијски састав екстраката одабраних аутохтоних макрогљива"**

### IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са назнаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикана и сл.

Ова докторска дисертација, написана на 131 страни, садржи 8 поглавља, 50 слика, 23 табеле и 251 литературни навод.

Према постављеним циљевима у овој докторској дисертацији сакупљено је и детерминисано укупно седам врста аутохтоних гљива са подручја Фрушке горе, Таре и Вршачког брега, пет лигниколних - *Bjerkandera adusta*, *Pleurocybella porrigens*, *Stereum hirsutum*, *Stereum subtomentosum* и *Trametes versicolor*, и две териколне - *Amanita strobiliformis* и *Hudnum repandum*. Утврђена је њихова биолошка активност (антирадикалска, антиоксидативна, антимикуробна, анти-ацетилхолинестеразна и цитотоксична) спрам хемијског састава њихових водених (H<sub>2</sub>O), етанолних (EtOH), метанолних (MeOH) и полисахаридних (PSH) екстраката. Анализа хемијског састава одабраних врста укључила је одређивање хемијске карактеризације PSH екстраката - FTIR анализом, одређивање фенолног профила -HPMC/MS-MS, садржаја органских киселина - HPLC, садржаја масних киселина - GC-FID и садржаја биогених елемената - AAS. Спектрофотометријским методама одређен је укупан садржај протеина и укупан садржај фенола и флавоноида. Према антирадикалној активности OH<sup>•</sup>, O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, OH<sup>•</sup>, Asc<sup>•</sup>, DPPH<sup>•</sup> и ABTS<sup>•+</sup> издвојили су се екстракти лигниколних врста: MeOH екстракт врсте *P. porrigens*, H<sub>2</sub>O екстракт *P. porrigens*, MeOH екстракт *T. versicolor*, H<sub>2</sub>O екстракт *S. hirsutum*, MeOH екстракт *S. subtomentosum* и H<sub>2</sub>O екстракт *B. adusta*, наведеним редом. Најјачу антиоксидативну активност добијену FRAP и поларографском HPMC методом испољили су PSH и H<sub>2</sub>O екстракти териколне врсте *A. strobiliformis*. Антимикуробна активност анализираних екстраката одређена је испитивањем антибактеријског, антифунгалног и антивиралног потенцијала, при чему се издвојила врста *H. repandum* испољавајући најбољи ефекат на Грам-позитивне и Грам-негативне бактерије и на све анализирание фитопатогене изолате гљива (*Fusarium* и *Alternaria*) и *T. versicolor* на анализирани бактериофаг. Анти-ацетилхолинестеразна активност одређена је тестовима *in solid* и *in liquid*, а најбољи проценат инхибиције AChE испољили су EtOH екстракти врста *S. hirsutum*, *B. adusta*, *S. subtomentosum* и *T. versicolor*. Цитотоксична активност екстраката одређена је МТТ тестом, а према најбољој испољеној активности издвојили су се MeOH екстракт *P. porrigens* и H<sub>2</sub>O и EtOH екстракти *B. adusta*. Цитотоксична активност ових лигниколних врста нарочито је изражена након 72 h. На основу добијених резултата, према најбољој испољеној активности, различитих врста и њихових екстраката у примењеним тестовима, јасно је да биолошка активност и хемијски састав зависе од порекла, врсте и типа екстракта анализираних гљива. На основу типа растварача односно екстраката врста које су показале најбољу активност у поменутих тестовима и на основу добијених корелација, као и на основу детектованих једињења, претпостављамо да су за испољене активности

у највећој мери одговорна фенолна једињења и полисахариди.

Испољени биопотенцијал анализираних врста гљива упућује на њихову потенцијалну употребу као функционалне хране и нутрацеутика, као и у биоконтроли фитопатогена.

**Прво поглавље – Увод** (1 страна)

**Друго поглавље – Општи део** (25 страна)

Обухвата приказ досадашњих сазнања о дивље растућим гљивама из раздела Basidiomycota, укључујући њихов фармаколошки потенцијал, с акцентом на следеће врсте: *Bjerkandera adusta*, *Pleurocybella porrigens*, *Stereum hirsutum*, *Stereum subtomentosum*, *Trametes versicolor*, *Amanita strobiliformis* и *Hydnum repandum*. Дат је увид у неке од водећих болести данашњице (Алцхајмерову болест, карцином и резистентност микроорганизама на антибиотике и фунгициде), као и у медицински потенцијал гљива (лекови и додаци хране).

**Треће поглавље – Циљ рада** (2 стране)

Ово поглавље обухвата дефинисање циљева рада, тј. одређивање биолошке активности и хемијског састава екстраката одабраних врста гљива.

**Четврто поглавље – Експериментални део** (20 страна).

Садржи 8 потпоглавља, у складу са претходно дефинисаним циљевима истраживања. Обухвата приказ метода за одређивање биолошке активности (антирадикалска, антиоксидативна, антимикробна, анти-ацетилхолинестеразна и цитотоксична активност), списак тест сојева микроорганизама, као и методе за одређивање хемијског састава.

**Пето поглавље – Резултати** (47 страна)

Ово поглавље укључује све експериментално добијене резултате.

**Шесто поглавље – Дискусија** (18 страна)

У овом поглављу су дискутутовани експериментално добијени резултати.

**Седмо поглавље – Закључак** (4 стране)

Релевантни закључци (изнети у целини) сročени су у складу са постављеним циљевима, а на основу добијених резултата.

**Осмо поглавље – Литература** (9 страна)

Списак литературе садржи 251 литературна навода.

## **V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

**Увод** пружа преглед свих институција (факултета и института) које су омогућиле израду ове докторске дисертације, као и сажет опис свих поглавља дисертације.

**Комисија оцењује да је наслов рада прецизно формулисан, а увод концизан и информативан.**

**Општи део** је подељен у 9 потпоглавља. Садржи опште биолошке и еколошке карактеристике представника раздела Basidiomycota, као и информисе о њиховом лековитом, терапеутском и нутритивном потенцијалу. Такође, изнете су информације и о антиоксидативним процесима у ћелији и релевантним системима заштите, као и о молекулским основама патофизиолошких процеса, одговорним за настанак и развој различитих обољења са посебним освртом на Алцхајмерову болест. Представљена је и биолошка активност одабраних врста и њихов хемијски састав (биогени елементи, органске и масне киселине, феноли, флавоноиди, протеини и полисахариди) .

**Комисија сматра да општи део пружа адекватан приказ проблема истраживања ове докторске дисертације и да представља добру основу за дефинисање циљева истраживања.**

**Циљеви истраживања**, као јасно дефинисани, груписани су у 4 основне целине:

- одабир, прикупљање и детерминација узорака гљива
- припрема одабраних екстраката гљива
- одређивање биолошке активности екстраката

- хемијска карактеризација екстраката

**Комисија оцењује да су циљеви рада ове докторске дисертације јасно, коректно и логично дефинисани.**

**Експериментални део** пужа детаљан опис свих фаза експерименталног рада. Дат је приказ поступака припреме екстраката, преглед анализираних сојева микроорганизама, метода за одређивање биолошке активности екстраката, као и примењених метода за хемијску карактеризацију узорака (LC-MS/MS, LC-MS, GC-MS, FTIR, UV-VIS и AAS). Експериментални подаци обрађени су помоћу основне и мултиваријантне статистичке анализе.

**Комисија оцењује да примењене методе, као савремене и адекватне, омогућавају добијање валидних научно-истраживачких резултата. Осим тога, експериментално добијени подаци коректно су статистички обрађени.**

**Резултати** су подељени на 2 потпоглавља. Добијени резултати упоређени су са резултатима других (сличних) истраживања, реализованих у последње две деценије. Дискусија је базирана на подацима за исте врсте гљива и/или блиске им сроднике, како пореклом из Републике Србије, тако и широм света. Међутим, за већину анализираних гљива (*Bjerkandera adusta*, *Pleurocybella porrigens*, *Stereum subtomentosum* и *Amanita strobiliformis*), подаци за биолошку активност су први пут представљени у овој дисертацији.

**Комисија оцењује да су резултати приказани прегледно и систематично и у складу са постављеним циљевима дисертације.**

**Дискусија** је подељена у 2 потпоглавља и обухвата интерпретацију експериментално добијених резултата и њихову анализу уз поређење са литературним подацима претходних студија. У овом делу дискутовано које би групе једињења, али и конкретна једињења, могла бити одговорна за испољене биолошке активности појединих врста. Корелиране су групе једињења са испољеним активностима. Такође, у овом делу се разматра разлика у активности еколошки различитих група гљива - лигниколних и териколних врста, као и врсте *H.repandum* са различитих локалитета. Посебан значај ове докторске дисертације огледа се у проширивању досадашњих скромних сазнања о аутохтоним врстама гљива са подручја Републике Србије, како са аспекта њихове биоактивности, тако и са аспекта хемијског састава.

**Комисија оцењује да је кандидат детаљно и сваобухватно сагледао резултате и протумачио их са подацима из литературе.**

**Закључци** сумирају претходно изложене чињенице, афирмативно указујући на значајан биопотенцијал анализираних врста гљива, пре свега, као извора нових фармацеутика и/или нутрацеутика природног порекла.

**Комисија оцењује да су закључци утемељени на добијеним експерименталним подацима, правилно изведени и да дају одговоре на постављене циљеве дисертације.**

## **VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ**

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у часопису са ISI листе односно са листе министарства надлежног за науку када су у питању друштвено-хуманистичке науке или радове који могу заменити овај услов до 01. јануара 2012. године. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

**Радови и саопштења проистекли из истраживања у оквиру рада на докторској дисертацији**

**M<sub>21a</sub> Рад у међународном часопису изузетних вредности**

1. **Janjušević, Lj.**, Karaman, M., Šibul, F., Tommonaro, G., Iodice, C., Jakovljević, D., Pejin, B. (2017) The lignicolous fungus *Trametes versicolor* (L.) Lloyd (1920): A promising natural source of antiradical and AChE inhibitory agents. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32 (1), pp. 355-362.

**M<sub>51</sub> Рад у водећем националном часопису**

1. Spremo, N., Tesanović, K., Rakić, M., **Janjušević, Lj.**, Ignjatov, M., Bjelić, D., Karaman, M. (2017) Antifungal activity of selected macrofungi extracts against phytopathogenic fungal strains – genera *Fusarium* sp. and *Alternaria* sp. *Zbornik Matice Srpske, прихваћен рад*

**M<sub>33</sub> Саопштење са међународног скупа штампано у целини**

1. **Janjušević, Lj.**, Karaman, M., Pejin, B., Pastor, F., Glumac, M., Rašeta, M., Sužnjević, D. (2014) *In vitro* antioxidant activity of selected autochthonous macrofungi. In: Proceedings, *12th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry – PHYSICAL CHEMISTRY 2014*, Belgrade, Serbia, 22-26 September 2014, pp. 502-505.

**M<sub>34</sub> Саопштење са међународног скупа штампано у изводу**

1. **Janjušević, Lj.**, Karaman, M., Šibul, F., Tommonaro, G., Iodice, C., Tešanović, K., Pejin, B. (2017) An insight into acetylcholinesterase inhibitory activity of selected lignicolous macrofungi: the case study of water extracts. *9th International Medicinal Mushrooms Conference*, Palermo, Sicily, Italy, 24-27 September 2017., **прихваћено саопштење**
2. **Janjušević, Lj.**, Karaman, M., Šibul, F., Tommonaro, G., Iodice, C., Tešanović, K., Pejin, B. (2017) Acetylcholinesterase inhibitory activity of selected Serbian wild mushrooms. *9th International Medicinal Mushrooms Conference*, Palermo, Sicily, Italy, 24-27 September 2017. (**M<sub>34</sub>**), **прихваћено саопштење**
3. **Janjušević, Lj.**, Karaman, M., Šibul, F., Gorjanović, S., Pastor, F., Kebert, M., Pejin, B. (2017) An insight into chemistry and bioactivity of *Amanita strobiliformis* (Paulet ex Vittad.) Bertill. *9th International Medicinal Mushrooms Conference*, Palermo, Sicily, Italy, 24-27 September 2017., **прихваћено саопштење**
4. Karaman, M., **Janjušević, Lj.**, Pejin, B., Tešanović, K., Nakarada, Đ., Mojović, M. (2017) Radical scavenging capacity and phenol profiles of extracts of autochthonous macrofungi. *9th International Medicinal Mushrooms Conference*, Palermo, Sicily, Italy, 24-27 September 2017., **прихваћено саопштење**
5. **Janjušević, Lj.**, Pejin, B., Tešanović, K., Jovanović, J., Rašeta, M., Karaman, M. (2015) *In vitro* evaluation of antioxidant potential of the fungus *Stereum subtomentosum* Pouzar (1964). In: Book of Abstracts, *3rd Congress Redox Medicine (Reactive Species Signaling, Analytical Methods, Phytopharmacy, Molecular Mechanisms of Disease)*, Belgrade, Serbia, 25-26 September 2015, pp. 57, ISBN 978-86-912893-3-1.
6. **Janjušević, Lj.**, Karaman, M., Jovanović, J., Tešanović, K., Rašeta, M., Pejin, B. (2015) The fungus *Pleurocybella porrigens* (Pers.) Singer may offer novel antioxidants of natural origin. In: Book of Abstracts, *3rd Congress Redox Medicine (Reactive Species Signaling,*

*Analytical Methods, Phytopharmacy, Molecular Mechanisms of Disease*), Belgrade, Serbia, 25-26 September 2015, pp. 58, ISBN 978-86-912893-3-1.

7. **Janjušević, Lj.**, Karaman, M., Pejin, B., Tešanović, K., Bogavac, M. (2015) Antibacterial activity screening of two inedible fungal species *Bjerkandera adusta* (Wild.ex Fr.) P. Karst. and *Trametes versicolor* (L.) Lloyd (1920). In: *2nd International Conference on Plant Biology, 21th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society*. Book of Abstracts, Petnica, 17-20 June 2015, pp. 79, ISBN 978-86-912591-3-6.
8. Jovanović, J., Pejin, B., **Janjušević, Lj.**, Tešanović, K., Karaman, M. (2015) *In vitro* evaluation of antioxidant activity and total phenol content of the medicinal mushrooms *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers.). In: *2nd International Conference on Plant Biology, 21th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society*. Book of Abstracts, Petnica, Serbia, 17-20 June 2015, pp. 80, ISBN 978-86-912591-3-6.

## VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

У овој докторској дисертацији анализирани су аутохтоне дивље растуће врсте гљива са планина Фрушке горе, Таре и Вршачког брега, од којих је пет лигниколних врста: *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst 1879 (fam. Meruliaceae), *Pleurocybella porrigens* (Pers.) Singer 1947 (fam. Marasmiaceae), *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. 1800 (fam. Stereaceae), *Stereum subtomentosum* Pouzar 1964 (fam. Stereaceae), *Trametes versicolor* (L.) Lloyd 1921 (fam. Poriaceae) и две териколне врсте *Amanita strobiliformis* (Paulet ex Vittad.) Bertill. 1866 (fam. Amanitaceae) и врста *Hydnum repandum* L. 1753 (fam. Hydnaceae) (са два различита локалитета).

Први пут су забележени подаци о биолошкој активности (антирадикалска, антиоксидативна, антимикробна, анти-ацетилхолинестеразна и цитотоксична) и хемијском саставу (фенолни профил, садржај органских и масних киселина и садржај биогених елемената) свих анализираних аутохтоних врста са подручја Србије, осим за врсту *T. versicolor*.

На основу добијених резултата и у складу са постављеним циљевима могу се извести следећи закључци:

- ✓ Најбољу антирадикалску активност према  $\text{OH}^\bullet$  испољио је  $\text{MeOH}$  екстракт лигниколне врсте *P. porrigens*. На основу високе корелације између укупног садржаја фенола и на основу фенолног профила закључујемо да би за испољену активност могли да буду одговорни флавоно-апигенин и лутеолин;
- ✓ Као најбољи анти- $\text{O}_2^{\bullet-}$  агенс истакао се  $\text{H}_2\text{O}$  екстракт лигниколне врсте *P. porrigens*, а једињења која би могла да буду одговорна за испољену активност су фенолне киселине хинска, протокатехинска и ћилибарна киселина;
- ✓ Као најбољи анти- $\text{NO}^\bullet$  агенс истакао се  $\text{MeOH}$  екстракт врсте *T. versicolor*, а најразноврснији детектовани фенолни профил (38 фенолних једињења) мога би бити одговоран за испољену активност.
- ✓ Генерално, анти- $\text{Asc}^\bullet$  активност анализираних  $\text{H}_2\text{O}$  екстраката није била јако висока. Највећи проценат неутрализације  $\text{Asc}^\bullet$  радикала испољио је  $\text{H}_2\text{O}$  екстракт лигниколне врсте *S. hirsutum*.
- ✓ Према способности неутрализације  $\text{ABTS}^{+\bullet}$  истакао се  $\text{H}_2\text{O}$  екстракт врсте *B. adusta*, а генистинска киселина која је детектована само код ове врсте могла би да буде одговорна за испољену активност;
- ✓ Најјачу способност неутрализације  $\text{DPPH}^\bullet$  испољио је  $\text{MeOH}$  екстракт лигниколне врсте *S. subtomentosum*, док се као активна једињења намећу протокатехинска и гална киселина.
- ✓ Најјачу антиоксидативну активност испољила је териколна врста *A. strobiliformis*.  $\text{PSH}$  екстракт ове врсте испољио је најјачи потенцијал редукције  $\text{Fe}^{3+}$  јона, док је  $\text{H}_2\text{O}$  екстракт испољио најјачу антиоксидативну активност према поларографској  $\text{HPMC}$  методи. Закључујемо да су полисахариди, који су растворљиви у води, ове врсте у највећој мери заслужни за постигнуту антиоксидативну активност. Поред ових једињења, FTIR спектар

- показује и друга једињења феноле и протеине, чија активност доприноси антиоксидативности ове врсте. За испољени редукциони потенцијал највероватније су одговорни полисахаридно-фенолни комплекси као и висок садржај глукозе, а низак садржај галактозе и ксилозе у H<sub>2</sub>O екстракту врсте *A. strobiliformis*;
- ✓ Претпоставка је да су највећи укупан садржај протеина и фенола, који су добијени за врсту *A. strobiliformis* (135,83±7,19 мг протеина/г с.м.) условили најјачу испољену антиоксидативну активност ове врсте;
  - ✓ Антимикробна активност анализираних врста зависила је од врсте, екстракционог средства, али и од тестираног организма. Најбољу антибактеријску активност испољио је EtOH екстракт врсте *H. repandum*, делујући и на Гр-негативне и на Гр-позитивне бактеријске сојевае, при чему је најјаче деловање испољено на атестиране сојевае: *S. aureus* (ATCC 6538), *B. subtilis* (ATCC 6633) и *P. aeruginosa* (ATCC 35554), док су хумани изолати били неосетљиви на примењене екстракте. Генерално, Гр-позитивни сојеви и хумани изолати показали су се као резистентнији;
  - ✓ Изузетна антифунгална активност (MIC 24,75 мг/мл; MBC 24,75/49,95 мг/мл) коју је EtOH екстракт врсте *H. repandum* испољио према свим испитиваним фитопатогеним плеснима (*F. proliferatum* - BL1, *F. verticilioides* - BL4, *F. proliferatum* - BL5, *F. graminearum* - C1 и *A. padwicki* - ALT) указује на његов велики потенцијал и огроман значај у пољопривреди у смислу биоконтроле фитопатогена.
  - ✓ Најбоље антивирално деловање испољио је MeOH екстракт врсте *T. versicolor*, а једињење које би могло да буде одговорно за испољену активност је флаванол-катехин, који је детектован само у овај врсти и у највећој концентрацији у поменутом екстракту (21,90 µг/г с.м.). Поред тога, флавонол-кампферол (16,50 µг/г с.м.) и бифлавоноид-аментофлавонол (33,20 µг/г с.м.) садржани у MeOH екстракту врсте *S. subtomentosum* и EtOH екстракту *H. repandum*, који су такође показали антивирусна активност, упућује на њих као потенцијална одговорна једињења за испољену активност.
  - ✓ Већина испитиваних гљива завреднује пажњу даљих испитивања јер представљају потенцијални извор природних инхибитора AChE. Међутим, посебно треба истаћи анти-AChE активност коју су испољили EtOH екстракти лигниколних врста *S. hirsutum*, *B. adusta*, *S. subtomentosum* и *T. versicolor*. Фенолна једињења која би могла да буду одговорна за испољену активност су апигенин, баикалеин, *p*-хидроксибензоева и гална киселина. Свесни чињенице о неминовности брзог ширења неуродегенеративних обољења а посебно Алцхајмерове болести, испитивања која су учињена на пољу изналажења потенцијалних терапеутика, конкретно инхибитора AChE, дају велики допринос науци. Поред тога, низак садржај бабра у поменутих врстама (4,83, 6,36, 8,06 и 1,29 мг/кг, наведеним редом), који утиче на стварање сенилних плака у мозгу (акумулацију Aβ), додатно их чини погодним за употребу у превенцији АБ.

На основу хемијског састава анализираних врста гљива и њихових екстраката закључујемо следеће:

- ✓ На основу планарне хроматографије полисахаридних фракција гљива установљено је да су најдоминантнији шећери свих испитиваних врста били Д-галактоза и Д-глукоза.
- ✓ Поред полисахарида у FTIR спектрима уочено је и присуство протеина, полифенолних једињења и пигмената. Такође, потврђено је и да полисахаридни узорци не садрже уронске киселине.
- ✓ Највећи укупан садржај флавоноида забележен је у EtOH екстракту врсте *S. subtomentosum*.
- ✓ На основу HPLC/MS-MS технике у свим анализираним врстама гљива детектована су фенолна једињења (флавоноиди и фенолне киселине). Садржај појединих група фенолних једињења зависио је од типа екстракта, односно примењеног растварача. Највећи број детектованих фенолних једињења, укупно 38, забележено је за врсту *T. versicolor*, док је у осталим врстама уочена значајно мања разноврсност фенолних једињења (8-12), али не и укупан садржај. Укупан садржај детектованих фенолних једињења зависио је како од екстракционог средства тако и од саме врсте гљиве, при чему су сви екстракти садржали највише аментофлавонола, *p*-хидроксибензоеве и хинске киселине код скоро свих анализираних врста.
- ✓ Међу органским киселинама хинска, ћилибарна и бутерна биле су присутне у свим испитиваним врстама. На основу модел организма *H. repandum* утврђено је да се састав органских киселина разликује и у оквиру исте врсте са различитих локалитета што значи да

- је утицај фактора средине од пресудног значаја за биохемијски састав гљиве.
- ✓ Већи садржај  $K^+$  као макроелемента забележен у ектомикоризној врсти *A. strobiliformis* и *H. repandum*, у односу на анализираних лигничолних гљиве, највероватније је резултат симбиотских односа мицелије гљива и кореновог система биљака. Међу анализираним микроелементима гљиве су највише акумулирале  $Fe^{2+}$  (400,89 мг/кг), а затим  $Mn^{2+}$  (45,20 мг/кг) и  $Zn^{2+}$  (45,06 мг/кг), при чему су териколне (664,48; 56,96; 58,42 мг/кг, наведеним редом) биле бољи акумулатори од лигничолних врста (137,30; 33,45; 31,71 мг/кг, наведеним редом).
  - ✓ Садржај макро и микроелемената и масних киселина одређује нутритивни значај анализираних врста, док садржај фенолних једињења одређује њихову лековитост, што указује на значај свих анализираних врста као функционалне хране.

Закључци истраживања спроведених у оквиру ове докторске дисертације јасно указују да је кандидат на постављене циљеве успешно одговорио у целости, при чему је утврђен висок биопотенцијал анализираних гљива.

### **VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА**

Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Кандидат Љиљана Н. Јањушевић резултате своје докторске дисертације представила је у виду логичких целина, на систематичан и прегледан начин. Резултати су приказани у виду текста и слика, табеларно и графички, а у складу са захтевима прописаним за научно-истраживачки рад. Добијени подаци биоактивности и хемијског састава екстраката гљива су адекватно интерпретирани и критички продискутовани. Коначно, изведени су валидни закључци који у потпуности одговарају постављеним циљевима.

**Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачења резултата истраживања.**



## **IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе.

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

**Комисија констатује да је докторска дисертација кандидата Љиљане Н. Јањушевић урађена и написана у складу са пријавом теме.**

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

**Ова докторска дисертација садржи све битне елементе.**

Током њене израде кандидат је показао висок степен познавања проблематике истраживања; начинио је обимни преглед савремених литературних навода; коректно је поставио циљеве рада; применио је адекватне и савремене методе истраживања; статистички обрађене резултате јасно је приказао и критички их продискутовао; коначно, на основу истих, извео је конкретне закључке.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Подаци о биолошкој активности и хемијском саставу екстраката одабраних аутохтоних врста гљива са подручја наше државе раније нису били доступни, уз изузетак врсте *T. versicolor*. Примера ради, за врсту *A. strobiliformis*, која се показала као веома потентан извор антиоксиданаса природног порекла, од којих би неки могли да представљају нова органска једињења, до сада није било релевантних података у литератури. Осим тога, врста *H. repandum* издвојила се као ефикасан антифунгални агенс спрам фитопатогених сојева плесни.

Оригиналност ове докторске дисертације, међутим, лежи у експерименталним подацима за анти-ацетилхолинестеразну активност анализираних екстраката гљива, с посебним освртом на врсте *S. hirsutum*, *B. adusta* и *S. subtomentosum*. С тим у вези, проблематику нових фармацеутика и нутрацеутика првенствено би требало сагледати са аспекта Алцхајмерове болести, водећег облика деменције у свету са крајње лошим прогнозама. Свеукупно, ова докторска дисертација је значајно допринела проширивању досадашњих сазнања у области и представља основу за нова истраживања, која би могла да резултирају патентом и комерцијалним производима, намењеним оболелима од Алцхајмерове болести и сличних неуродегенеративних обољења, као фармацеутика или нутрацеутика (функционална храна, медицинска храна).

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

**Комисија са задовољством констатује да у овој докторској дисертацији нису уочени било какви недостаци.**

**X ПРЕДЛОГ:**

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

На основу укупне оцене докторске дисертације и увида у самостални научно-истраживачки рад кандидата, Комисија предлаже да се докторска дисертација под насловом: "**Биолошка активност и хемијски састав екстракта одабраних аутохтоних макрогљива**" прихвати, а кандидату **Љиљани Н. Јањушевић** одобри одбрана.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

---

**др Петар КНЕЖЕВИЋ**

ванредни професор, ПМФ, Универзитет у Новом Саду, **председник**

---

**др Маја КАРАМАН**

ванредни професор, ПМФ, Универзитет у Новом Саду, **ментор**

---

**др Борис ПЕЈИН**

научни сарадник, Институт за мултидисциплинарна истраживања – IMSI, Универзитет у Београду, **ментор**

---

**др Станислава ГОРЈАНОВИЋ**

научни саветник, Институт за општу и физичку хемију – IOFH, Београд, **члан**

---

**др Соња КАИШАРЕВИЋ**

ванредни професор, ПМФ, Универзитет у Новом Саду, **члан**

---

**др Александра НОВАКОВИЋ**

научни сарадник, Научни институт за прехранбене технологије – FINS, Универзитет у Новом Саду, **члан**