

ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ
кандидата Иване С. Пајчин, маг. инж. технологије**I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ**

1. Датум и орган који је именовao комисију
30.8.2019. године, Наставно-научно веће Технолошког факултета Нови Сад
2. Састав комисије са назнаком 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:
Председник: др Јелена Додић, редовни професор, Биотехнологија, 15.10.2017. године, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду
Ментор: др Јована Граховац, ванредни професор, Биотехнологија, 1.10.2017. године, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду
Члан: др Александар Јокић, ванредни професор, 1.6.2016. године, Хемијско инжењерство, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду
Члан: др Мила Граховац, доцент, 12.2.2015. године, Фитопатологија, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

1. Име, име једног родитеља, презиме:
Ивана, Слободан, Пајчин
2. Датум рођења, општина, држава:
13.11.1990. године, Нови Сад, Република Србија
3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив
Технолошки факултет Нови Сад, Биотехнологија, мастер инжењер технологије
4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија
2013. година, Биотехнологија
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:

Оптимизација услова умножавања и примарног издвајања биомасе *Bacillus* sp. за примену у фитомедицини

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Докторска дисертација је написана на српском језику, латиничним писмом, на 188 страна А4 формата, са 55 слика, 47 табела и 432 литературна навода.

Садржај дисертације подељен је у 8 поглавља на следећи начин:

1. Увод (стр. 1-2)
2. Циљеви истраживања (стр. 3)
3. Преглед литературе (стр. 4-43, 3 слике, 5 табела)
4. Материјал и методе (стр. 44-63, 2 слике, 13 табела)
5. Резултати и дискусија (стр. 64-157, 55 слика, 29 табела)
6. Закључци (стр. 158-160)
7. Литература (стр. 161-188)

Дисертацију чине и садржај, спискови слика, табела и скраћеница, кључна документацијска информација са сажетком на српском и енглеском језику, као и биографија кандидата.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У **Уводу** докторске дисертације истакнута је актуелност проблематике којом се она бави. Указано је на узроке прекомерне употребе пестицида, ризике који из тога следе као и на потребе за изналажењем нових начина за контролу биљних штеточина и превенцију и третман болести биљака. Дат је кратак преглед анализе потенцијала примене биомасе бактерија рода *Bacillus* и њихових меаболита у биолошкој контроли биљних штеточина са посебним освртом на фитопатогене бактерије рода *Xanthomonas*. Недвосмислено је објашњен значај развоја биопроцеса производње антимикробних агенаса ефикасних против фитопатогених изолата рода *Xanthomonas* применом производног соја рода *Bacillus* на нивоу лабораторијског биореактора, што је основа за развој и пројектовање процеса пилот и индустријских размера. Такође је указано на могућности унапређења процеса микрофилтрације култивационих течности изолата рода *Bacillus*, као корака примарног издвајања биомасе, који може значајно да допринесе повећању ефикасности и смањењу трошкова овог процесног корака.

У поглављу **Циљеви истраживања** јасно и недвосмислено је формулисан основни циљ истраживања ове докторске дисертације, као и специфични циљеви истраживања неопходни за његову реализацију.

Преглед литературе обухвата научно доказане чињенице и стручна знања из области истраживања докторске дисертације, које су систематизоване у шест целина према тематици коју обрађују. У оквиру прве целине, *Биолошка контрола и биопестициди*, извршена је подела биопестицида према врсти активне компоненте и према типу фитопатогена за чије се сузбијање користе, дат је преглед стања на тржишту биопестицида и разјашњени су механизми биолошке контроле применом микробиолошких биопестицида. У другој целини *Примена бактерија рода Bacillus у биолошкој контроли* истакнуте су особине бактерија овог рода, које их чине погодним за примену у биолошкој контроли и разврстани су механизми њиховог антимикробног деловања. Посебна пажња посвећена је особинама врсте *Bacillus velezensis* и њеној примени у биолошкој контроли фитопатогена. Трећа целина *Бактерије рода Xanthomonas као патогени биљака* обухвата анализу најзначајнијих фитопатогених бактерија рода *Xanthomonas* и болести биљака које оне изазивају као и приказ до сада објављених истраживања која се односе на биолошку контролу фитопатогених бактерија рода *Xanthomonas* применом бактерија рода *Bacillus*. Четврта целина *Развој биотехнолошких процеса производње биоконтролних агенаса* обухвата анализу корака развоја биопроцеса и значаја математичког моделовања при увећању размера биопроцеса са лабораторијског на индустријски ниво. Пета целина *Сирови глицерол из производње биодизела као сировина у биотехнолошкој производњи* односи се на могућности примене сировог глицерола као извора угљеника и енергије у различитим типовима микробиолошких процеса са посебним аспектом на оне који се изводе уз примену бактерија рода *Bacillus*. У шестој целини *Микрофилтрација као техника сепарације биомасе микроорганизама* размотрен је потенцијал унапређења поступка унакрсне микрофилтрације применом хидродинамичких метода за побољшање флукса пермеата и дат је преглед примене поступка микрофилтрације за издвајање биомасе бактерија рода *Bacillus*.

Поглавље **Материјал и методе** подељен је у девет целина кроз које су наведени подаци о примењеним микроорганизмима односно њиховом чувању и освежавању, саставу примењених хранљивих подлога, припреми инокулума и инокулацији, процесним условима током култивације микроорганизама у различитим фазама истраживања, примењеним аналитичким методама, условима извођења микрофилтрације култивационих течности производног микроорганизама, тестирању антимикробне активности култивационих течности производног микроорганизама *in planta* као и са циљем анализе ширег спектра деловања и статистичкој обради експерименталних података.

Резултати и дискусија су најобимније поглавље у коме су приказани резултати експерименталног рада, као и резултати математичког моделовања и оптимизације проистекли из активности реализованих у складу са програмом истраживања који је дефинисан у пријави теме дисертације. У првом делу *Скрининг потенцијалних производних микроорганизама* испитано је деловање четрнаест микроорганизама против фитопатогених изолата рода *Xanthomonas* на основу чега је један изолат *Bacillus* sp. одабран као потенцијални производни микроорганизам. У другом делу *Молекуларна идентификација одабраног производног микроорганизама* приказани су резултати који потврђују припадност одабраног производног микроорганизама врсти *Bacillus velezensis*. У трећем делу *Одабир оптималног извора угљеника и органског извора азота* извршено је поређење различитих комбинација извора угљеника и органског извора азота у хранљивим подлогама са циљем производње биоконтролних агенаса и на основу резултата статистичке обраде података одабрани су глицерол и екстракт квасца као извори поменутих нутријената. У четвртном делу *Моделовање и оптимизација састава хранљиве подлоге на бази комерцијалног глицерола* применом статистичких и математичких метода анализирани су резултати експериментално реализованих у складу са изабраним факторијалним планом, добијени су математички модели који описују утицај концентрација одабраних компоненти хранљиве подлоге на показатеље успешности биопроцеса и извршена је оптимизација састава хранљиве подлоге на бази комерцијалног глицерола. Поред тога, извршена је анализа тока култивације производног микроорганизама *Bacillus velezensis* у Вулфовим боцама као и у лабораторијском биореактору запремине 3 l (радне запремине 2 l) применом хранљиве подлоге оптимизованог састава на бази комерцијалног глицерола ради валидације остварених резултата. Пети дело се односи на *Идентификацију антимикробних једињења произведених од стране производног микроорганизама Bacillus velezensis током култивације у лабораторијском биореактору*. Будући да сирови глицерол из производње биодизела представља један од најшире доступних индустријских ефлуената, паралелно са растом производње биодизела, долази и до све већег интересовања научне јавности за

испитивање могућих решења када је у питању његово искоришћење. Стога је у оквиру шестог дела *Моделовање и оптимизација састава хранљиве подлоге на бази сировог глицерола* извршено моделовање утицаја концентрација сировог глицерола и других одабраних компоненти хранљиве подлоге на показатеље успешности биопроцеса. На основу добијених модела извршена је оптимизација састава хранљиве подлоге на сировог глицерола. Након тога, анализиран је ток култивације производног микроорганизма *Bacillus velezensis* у Вулфовим боцама као и у лабораторијском биореактору запремине 3 l (радне запремине 2 l) применом хранљиве подлоге оптимизованог састава на бази сировог глицерола ради валидације остварених резултата. Седми део се односи на испитивања *Унапређења поступка унакрсне микрофилтрације за издвајање биомасе производног микроорганизма Bacillus velezensis*. У оквиру овог поглавља испитана је примена унакрсне микрофилтрације без примене хидродинамичких метода за повећање флукса перемеата, унакрсна микрофилтрација уз примену *Kenics* статичког мешача, унакрсна микрофилтрација уз примену удубавања ваздуха као и унакрсна микрофилтрација уз примену комбинације *Kenics* статичког мешача и удубавања ваздуха за издвајање биомасе производног микроорганизма *Bacillus velezensis*. Осми део се односи на *Испитивање активности произведених биоконтролних агенаса против фитопатогена наприке in planta* док је у деветом делу извршено *Испитивање ширег спектра антимикуробног деловања производног микроорганизма Bacillus velezensis*. Сви резултати су систематизовани и приказани прегледно, на одговарајући начин, табеларно или графички. Дискусија резултата је разложна и концизна, а њихово тумачење критичко и уз осврт на публиковане резултате других аутора.

У поглављу Закључци, систематизовани су општи закључак и специфични закључци који су концизни и разложно изведени из резултата и њихове дискусије, а у складу са постављеним општим и специфичним циљевима ове докторске дисертације.

Поглавље Литература садржи 432 литературна навода, који су прегледно систематизовани и цитирани на уобичајен и правилан начин. Изабране референце су референтне, актуелне и примерене проучаваној тематици.

Поред наведених поглавља дисертацију чине и Садржај, Списак ознака, симбола и скраћеница, Списак табела, Списак слика и Списак скраћеница који претходе основном тексту и посебно су пагинирани, као и Кључна документацијска информација са сажетком на српском и енглеском језику и Биографија кандидата.

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

M21

1. Aleksandar Jokić, Ivana Pajčin, Nataša Lukić, Jovana Grahovac, Jelena Dodić, Zorana Rončević, Zita Šereš: Energy efficient turbulence promoter flux-enhanced microfiltration for the harvesting of rod-shaped bacteria using tubular ceramic membrane. *Chemical Engineering Research and Design*, 150, p. 359-368, 2019.

M33

1. Ivana Pajčin, Zorana Rončević, Aleksandar Jokić, Siniša Dodić, Jelena Dodić, Jovana Grahovac: Optimization of black rot biocontrol agents production. *Proceedings of the 8th PSU-UNS International Conference on Engineering and Technology (ICET-2017)*, 8-10th June 2017, Novi Sad, Serbia, Paper No. T2-1.3, p. 1-5, 2017.

M34

1. Ivana Pajčin, Vanja Vlajkov, Aleksandar Jokić, Jelena Dodić, Jovana Grahovac, Zorana Rončević, Nataša Lukić: Microfiltration of *Bacillus* sp. cultivation broths based on commercial and raw glycerol. *Book of abstracts of the 4th International Congress "Food Technology, Quality and Safety"*, 23-25th October 2018, Novi Sad, Serbia, p. 28, 2018.
2. Ivana Pajčin, Zorana Rončević, Jelena Dodić, Siniša Dodić, Mila Grahovac, Aleksandar Jokić, Jovana Grahovac: Investigation of different inoculum preparation conditions effect on biomass growth and antimicrobial activity of *Bacillus* sp. *Book of abstracts of the 6th International Conference "Sustainable Postharvest and Food Technologies – INOPTER 2019"*, 7th-12th April, 2019, Kladovo, Serbia, p. 145-146, 2019.
3. Ivana Pajčin, Jovana Grahovac, Jelena Dodić, Vanja Vlajkov, Siniša Dodić, Aleksandar Jokić, Mila Grahovac: Biocontrol of *Xanthomonas* spp. by *Bacillus velezensis* cultivated on commercial and raw glycerol. *Book of abstracts of the 4th International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases (Biocontrol 2019)*, 9-11th July, 2019, Viterbo, Italy, 2019.

M51

1. Ivana Pajčin, Zorana Rončević, Jelena Dodić, Siniša Dodić, Aleksandar Jokić, Jovana Grahovac: Production of biocontrol agents using *Bacillus* sp. in a laboratory scale bioreactor. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, Vol. 22, No. 3, p. 138-142, 2018.
2. Ivana Pajčin, Zorana Rončević, Jelena Dodić, Siniša Dodić, Mila Grahovac, Aleksandar Jokić, Jovana Grahovac: Effect of different inoculum preparation conditions on the biomass growth and antimicrobial activity of *Bacillus* sp. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, Vol. 23, No. 2, p. 96-100, 2019.

M63

1. Ivana Pajčin, Zorana Rončević, Siniša Dodić, Aleksandar Jokić, Jelena Dodić, Jovana Grahovac: Ispitivanje mogućnosti iskorišćenja sirovog glicerola za proizvodnju antimikrobnih agenasa primenom *Bacillus* spp. VI Memorijalni naučni skup iz zaštite životne sredine „Docent dr Milena Dalmacija“, 29-30. mart 2018., Novi Sad, Srbija, UO-02.

M64

1. Ivana Pajčin, Zorana Rončević, Jelena Dodić, Siniša Dodić, Aleksandar Jokić, Jovana Grahovac: Proizvodnja agenasa biološke kontrole primenom *Bacillus* sp. u laboratorijskom bioreaktoru. XXX Nacionalna konferencija Procesna tehnika i energetika u poljoprivredi (PTEP 2018), 15-20. april, 2018., Brzeće (Kopaonik), Srbija, p. 49.

M85

1. Aleksandar Jokić, Jovana Grahovac, Nataša Lukić, Jelena Dodić, Mila Grahovac, Zita Šereš, Bojana Ikonić, Ivana Pajčin: Poboljšanje fluksa permeata prilikom mikrofiltracije kultivacionih tečnosti *Bacillus* sp. primenom Kenics promotora turbulencije. Tehničko rešenje, 2018.

VII ZAKЉUČCI OДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Основни циљ истраживања у оквиру ове докторске дисертације била је оптимизација услова умножавања и примарног издвајања биомасе соја *Bacillus* sp. са применом за спречавање појаве и ширења бактериоза повртарских усева које изазивају фитопатогене врсте рода *Xanthomonas*. Оптимизација биопроцеса обухватала је оптимизацију састава хранљиве подлоге на бази комерцијалног и сировог глицерола, како би се смањили трошкови биопроцеса у погледу припреме хранљиве подлоге, пречишћавања ефлуената биопроцеса и како би се потенцијално допринело решавању проблема присутног вишка сировог глицерола из производње биодизела, при чему је основни циљ оптимизације састава хранљивих подлога за култивацију производног микроорганизма била максимизација антимикуробне активности против фитопатогених изолата рода *Xanthomonas*. Такође, један од циљева истраживања у оквиру ове докторске дисертације био је и дефинисање оптималних услова извођења процеса микрофилтрације добијених култивационих течности уз примену различитих хидродинамичких метода за унапређење процеса унакрсне микрофилтрације, односно за побољшање флукса пермеата (*Kenics* статичког мешача, удувавања ваздуха и комбинације ових метода). Додатни циљ представљала је процена потенцијала биомасе соја *Bacillus* sp. за биолошку контролу ширег спектра различитих биљних патогена.

Узмајући у обзир претходно дефинисане специфичне циљеве истраживања у оквиру ове докторске дисертације, изведени су следећи специфични закључци:

- Резултати истраживања из фазе скрининга потенцијалних производних микроорганизма показали су да је највећи антагонистички потенцијал за сузбијање фитопатогених узолата рода *Xanthomonas* показао изолат *Bacillus* sp., при чему је уочена антимикуробна активност узорака култивационе течности, али и филтрата култивационе течности ослобођених биомасе производног микроорганизма, што указује на антимикуробну активност и биомасе производног микроорганизма, али и произведених секундарних метаболита. Резултати молекуларне идентификације применом методе ланчане реакције полимеразе (*Polymerase Chain Reaction - PCR*) и секвенцирања гена за 16 рНК показали су припадност одабраног производног микроорганизма врсти *Bacillus velezensis*.

- Приликом одабира оптималног извора угљеника и органског извора азота као основних компоненти хранљиве подлоге за производњу биоактивних агенаса ефикасних против фитопатогених сојева рода *Xanthomonas*, показало се да глицерол као извор угљеника и екстракт квасца као органски извор азота фаворизују антимикуробну активност производног микроорганизма *Bacillus velezensis* против фитопатогених изолата рода Хантхомонас.

- Моделовање састава хранљиве подлоге за производњу биоактивних агенаса ефикасних против фитопатогених сојева рода *Xanthomonas* применом производног микроорганизма *Bacillus velezensis* у погледу процене утицаја иницијалних концентрација основних нутријената (угљеника – комерцијалног и сировог глицерола, азота и фосфора) на одабране одзиве биопроцеса извршено је применом методологије одзивне површине. Добијени математички модели за одабране одзиве, односно пречник зона инхибиције, као основни показатељ антимикуробне активности, и резидуалне концентрације основних нутријената (глицерола, укупног азота и укупног фосфора), статистички су значајни при нивоу значајности од 95%, што представља основу за њихову даљу примену у оптимизацији састава хранљиве подлоге, симулацији и повећању размера биопроцеса.

- Оптимизација састава хранљивих подлога на бази комерцијалног и сировог глицерола за производњу биоактивних агенаса на бази *Bacillus velezensis* ефикасних против фитопатогених сојева рода *Xanthomonas* у погледу иницијалних концентрација основних нутријената (угљеника, азота и фосфора) извршена је применом методе жељене функције. Резултати оптимизације састава хранљиве подлоге на бази комерцијалног глицерола показали су да оптимизоване концентрације нутријената у овој хранљивој подлози износе: глицерол 10 g/l, екстракт квасца 2,83 g/l, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3 g/l, K_2HPO_4 1,07 g/l и $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,3 g/l. Са друге стране, оптимизован састав хранљиве подлоге на бази сировог глицерола добија се применом следећих концентрација нутријената: глицерол 10 g/l, K_2HPO_4 4,66 g/l и $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,3 g/l, чиме је постигнута уштеда у делу биопроцеса који се односи на трошкове припреме хранљиве подлоге на бази сировог глицерола, јер је доказано да у подлози оптимизованог састава није потребно применити органски и неоргански извор азота, због довољне количине извора овог нутријента у сировом глицеролу из производње биодизела. Такође, предвиђене вредности одзива биопроцеса (пречник зона инхибиције и резидуалне концентрације нутријената) добијене применом математичких модела генерисаних у кораку моделовања састава хранљивих подлога на бази комерцијалног и сировог глицерола показале су значајно смањење резидуалних концентрација нутријената у култивационој течности применом хранљивих подлога оптимизованог састава, уз добијање задовољавајућих вредности пречника зона инхибиције, што имплицира боље искоришћење нутријената и смањење трошкова биопроцеса у погледу пречишћавања и одлагања ефлуената биопроцеса.

- Валидација добијених модела састава хранљивих подлога на бази комерцијалног и сировог глицерола за производњу биоактивних агенаса ефикасних против фитопатогених сојева рода *Xanthomonas* применом производног микроорганизма *Bacillus velezensis* и хранљивих подлога оптимизованог састава извршена је извођењем биопроцеса у Вулфовим боцама укупне запремине 2 l и у лабораторијском биореактору укупне запремине 3 l, уз праћење тока култивације. Резултати експеримената валидације показали су задовољајући степен корелације између вредности одзива биопроцеса (пречник зона инхибиције и резидуалне концентрације нутријената) предвиђених моделом и вредности добијених култивацијом производног микроорганизма у Вулфовим боцама и лабораторијском биореактору. Бољи резултати свих испитиваних одзива биопроцеса

добијени су применом хранљиве подлоге оптимизованог састава на бази комерцијалног глицерола, што је и било очекивано узимајући у обзир велику количину нечистоћа присутну у сировом глицеролу из производње биодизела. И поред тога, потврђена је могућност примене сировог глицерола из производње биодизела као извора угљеника у биотехнолошком процесу производње биоконтролних агенаса. Такође, резултати биопроcesa указују на бољу прилагођеност производног микроорганизма микроорганизма *Bacillus velezensis* условима култивације у лабораторијском биореактору у поређењу са Вулфовим боцама.

- Унапређење процеса унакрсне микрофилтрације култивационих течности добијених након култивације производног микроорганизма *Bacillus velezensis* на хранљивој подлози на бази комерцијалног глицерола применом различитих хидродинамичких метода показало је значајан потенцијал примене Kenics статичког мешача, удувавања ваздуха и комбинације ових метода за побољшање флукса пермеата у стационарном стању. Примена Kenics статичког мешача као промотора турбуленције при оптимизованим оперативним условима унакрсне микрофилтрације (трансмембрански притисак 0,79 bar, проток напојне смеше 137,70 l/h) омогућава повећање вредности флукса пермеата у стационарном стању за око 350% у поређењу са унакрсном микрофилтрацијом без промотора турбуленције. Удувавањем ваздуха у ток напојне смеше при оптимизованим условима унакрсне микрофилтрације (трансмембрански притисак 0,68 bar, привидна брзина протицања напојне смеше 0,96 m/s и привидна брзина протицања ваздуха 0,25 m/s) постиже се повећање вредности флукса пермеата у стационарном стању за око 47%. Значајно већа вредност повећања флукса пермеата у стационарном стању уочава се приликом микрофилтрације уз примену комбинације Kenics статичког мешача и удувавања ваздуха (око 224%) при оптимизованим оперативним условима микрофилтрације (трансмембрански притисак 1 bar, привидна брзина протицања напојне смеше 1,59 m/s и привидна брзина протицања ваздуха 0,46 m/s) у поређењу са унакрсном микрофилтрацијом без примене хидродинамичких метода за побољшање флукса пермеата.

- *In planta* испитивање антимикробне активности препарата на бази *Bacillus velezensis* (култивационе течности добијене култивацијом производног микроорганизма у лабораторијском биореактору применом хранљивих подлога оптимизованог састава на бази комерцијалног и сировог глицерола) против фитопатогених сојева врсте *Xanthomonas euvesicatoria*, који изазивају бактериозну пегавост паприке, показало је значајан потенцијал примене биконтролних агенаса на бази *Bacillus velezensis* за сузбијање овог обољења паприке, уз резултате који показују значајно мање пречнике некрозе листова и ширења обољења у поређењу са контролом која је подразумевала инокулацију садница фитопатогеним изолатима, без третмана култивационим течностима на бази комерцијалног и сировог глицерола.

- Испитивање ширег спектра деловања препарата на бази *Bacillus velezensis* против фитопатогених сојева рода *Fusarium*, који изазивају труљење јабука у току складиштења, и рода *Colletotrichum*, коме припадају узрочници горке трулежи јабуке, показало је значајан потенцијал култивационе течности на бази комерцијалног глицерола добијене култивацијом производног микроорганизма *Bacillus velezensis* у лабораторијском биореактору, за сузбијање обољења изазваних фитопатогеним сојевима рода *Fusarium*. Са друге стране, за сузбијање горке трулежи јабука *in vivo* потребно је додатно оптимизовати процес производње биоконтролних агенаса, с обзиром на то да резултати *in vitro* тестирања антифунгалног деловања указују на висок потенцијал производног микроорганизма *Bacillus velezensis* за сузбијање фитопатогена рода *Colletotrichum*.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Приказ резултата докторске дисертације је подељен у ваљано конципиране делове, који сваки за себе представља целину, а у складу са дефинисаним циљевима. Резултати истраживања проистекли су из оригинално постављених лабораторијских експеримената, систематизовани су у логичне целине, обрађени рачунски и статистички и приказани прегледно и јасно табеларно и графички. На основу студиозне дискусије и тумачења добијених резултата које је изведено уз повезивање са резултатима других аутора из исте области истраживања, изведени су одговарајући закључци.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

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

Докторска дисертација је у потпуности написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Докторска дисертација садржи све битне елементе који се захтевају за радове овакве врсте.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Производња микробиолошких биопестицида, иако у константном порасту, и даље чини само мали део укупног светског тржишта средстава за заштиту биља, највише због високих трошкова и опсежних истраживања која претходе потенцијалној комерцијализацији производње овог типа биоконтролних агенаса. Истраживањима из оквира ове докторске дисертације обухваћена је оптимизација услова умножавања биомасе *Bacillus velezensis* у погледу одабира извора угљеника и органског азота као и количина одабраних нутријената у хранљивој подлози. Поред тога, извршена је анализа успешности култивације производног микроорганизма *B. velezensis* у Вулфовим боцама као и у лабораторијском биореактору укупне запремине 3 l (радне запремине 2 l) применом хранљиве подлоге оптимизованог састава на бази комерцијалног као и на бази сировог глицерола.

Јавно доступни научни подаци о употреби различитих микроорганизама и њихових метаболита у биолошкој контроли углавном се односе на одабир производног микроорганизама и испитивања производње на нивоу ерленамајера, а истраживања о условима производње у лабораторијском биореактору врло су ретка и уколико су рађена углавном су патентом заштићена или представљају произвођачку тајну. С друге стране, управо прелазак на ниво лабораторијског биореактора представља критичан корак у развоју биопроcesa јер подразумева значајну промену како запремине тако и услова извођења. У складу са наведеним, оригиналност докторске дисертације огледа се у томе што је истраживањима из њеног оквира потврђења успешност умножавања биомасе *B. velezensis* у лабораторијском биореактору.

Поред тога, допринос се огледа и у чињеници да је дефинисан биопроцес у којем се као сировина примењује сирови глицерол из производње биодизела за чије искоришћење влада велико интересовање у научној заједници, а његова примена свакако утиче и на смањење трошкова предложене производње. Управо дефинисање техно-економски оправданог поступка за добијање новог производа заснованог на *B. velezensis*, са потенцијалом примене на пилот или индустријском нивоу представља кључни допринос овог истраживања.

У оквиру дисертације, доказана је и могућност примене тубуларних керамичких мембрана у издвајању микробиолошке биомасе из култивационих течности у циљу примене у биолошкој заштити биљака. Поред тога доказано је значајно повећање ефикасности поступка издвајања применом хидродинамичких метода смањења прљања површине мембране попут примене промотора турбуленције, двофазног тока и комбиновања ове две методе уз очувану вијабилност ћелија *B. velezensis*. У доступној научној литератури нема података о сличним истраживањима те дисертација и са овог аспекта представља значајан допринос науци. Такође, подаци о *in planta* тестирању антимикуробних агенаса бактерија рода *Bacillus* против фитопатогених изолата рода *Xanthomonas* веома су ограничени.

На основу резултата ове докторске дисертације утврђено је да превентивни третман садница паприке култивационим течностима производног микроорганизама *B. velezensis* на бази комерцијалног и сировог глицерола у великој мери доприноси сузбијању фитопатогена *Xanthomonas euvesicatoria* и спречавању ширења симптома бактериозне пегавости на испитиваним садницама паприке што указује на потенцијал примене произведених биоконтролних агенаса у реалним условима, односно у пољу.

Део резултата из оквира ове дисертације објављен је у научним часописима и саопштен на научним скуповима чиме је додатно потврђено да докторска дисертација представља оригиналан допринос науци.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Недостаци докторске дисертације нису уочени.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију маг. инж. Иване С. Пајчин, под насловом: „Оптимизација услова умножавања и примарног издвајања биомасе *Bacillus* sp. за примену у фитомедицини“ и предлаже да се докторска дисертација прихвати, а кандидаткињи одобри одбрана.

председник комисије
др Јелена Додић, редовни професор
Технолошки факултет Нови Сад

ментор, члан комисије
др Јована Граховац, ванредни професор
Технолошки факултет Нови Сад

члан комисије
др Александар Јокић, ванредни професор
Технолошки факултет Нови Сад

члан комисије
др Мила Граховац, доцент
Пољопривредни факултет у Новом Саду