

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број захтева: 461/8-7.6.
Датум: 24.05.2017.

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

**за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији
за кандидата на докторским студијама**

Молимо да, сходно члану 47. став. 5. тачка 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11-пречишћени текст, 167/12 и 172/13), дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији:

Кандидат **ВЕРА (Миломир) КАРЛИЧИЋ**, студент докторских студија на студијском програму Пољопривредне науке, модул Мелиорације земљишта, пријавила је докторску дисертацију под називом: "Бактерије стимулатори биљног раста као потенцијал у екоремедијацији оштећених земљишта", из научне области Мелиорације земљишта.

Универзитет је дана 14.05.2013. године, својим актом број 61206-2260/2-13, дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: **"Бактерије стимулатори биљног раста као потенцијал у екоремедијацији оштећених земљишта"**.

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 29.03.2017. године, одлуком Факултета број 461/6-4/4, у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област, установа у којој је запослен

1. др Вера Раичевић, редовни професор, Еколошка микробиологија, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
2. др Блажо Лалевић, ванредни професор, Еколошка микробиологија, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
3. др Весна Голубовић-Ћургуз, ванредни професор, Заштита шума и украсних биљака, Универзитет у Београду – Шумарски факултет,
4. др Јелена Јовичић-Петровић, доцент, Еколошка микробиологија, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,,
5. др Филис Морина, научни сарадник, Екофизиологија и биохемија биљака, Универзитет у Београду – Институт за мултидисциплинарна истраживања.

Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 24.05.2017. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 461/8-7.6.
Датум: 24.05.2017. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 38. Правилника о правилима академских студија другог и трећег степена, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 24.05.2017. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднела **ВЕРА КАРЛИЧИЋ**, дипл. инж. и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«БАКТЕРИЈЕ СТИМУЛАТОРИ БИЉНОГ РАСТА КАО ПОТЕНЦИЈАЛ У ЕКОРЕМЕДИЈАЦИЈИ ОШТЕЋЕНИХ ЗЕМЉИШТА»**.

II Универзитет је дана 14.05.2013. године, својим актом број 61206-2260/2-13, дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у часопису међународног значаја:

Atanaskovic, I., Jovicic-Petrovic, J., Biocanin, M., **Karlicic, V.**, Raicevic, V., Lalevic, B. (2016): Stimulation of diesel degradation and biosurfactant production by aminoglycosides in a novel oil-degrading bacterium *Pseudomonas luteola* PRO23. *Hemijska industrija* 70:143-150.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору др Вери Раичевић, редовном професору, Институту за земљиште и мелиорације, Студентској служби и архиви.

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ
Датум: 05.04.2017.**

Предмет: Извештај Комисије за оцену и одбрану урађене докторске дисертације Вере Карличић, дипл. инж.

Одлуком Наставно-научног већа факултета број 461/6-4/4 од 24.03.2017, именовани смо у Комисију за оцену и одбрану урађене докторске дисертације под насловом: »Бактерије стимулатори биљног раста као потенцијал у екоремедијацији оштећених земљишта«, кандидаткиње Вере Карличић, дипл. инж. Након што смо детаљно проучили урађену докторску дисертацију, подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Вере Карличић, дипл. инж. написана је на 168 страна текста и укључује 35 табела, 16 слика и 8 графикона. Испред основног текста написан је резиме са кључним речима на српском и енглеском језику. Докторска дисертација садржи седам поглавља, и то: Увод (стр. 1 - 2), Преглед литературе (стр. 3 - 29), Циљеви истраживања (стр. 30), Материјал и методе (стр. 31 - 48), Резултати и Дискусија (стр. 49 - 128), Закључак (стр. 129 - 133) и Литература (стр. 134 - 168). На крају текста дисертације налази се Биографија кандидата и обавезне изјаве. Поголавља Преглед литературе, Материјал и методе, Резултати и Дискусија садрже више потпоглавља.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Увод. У уводу кандидаткиња истиче повећање интересовања за истраживања и практичну примену бактерија стимулатора биљног раста (*Plant growth promoting bacteria, PGPB*), као последицу пораста свести о ограничениости ресурса какво је земљиште и опасности које са собом носи конвенционална пољопривредна производња.

Преглед литературе. У *Прегледу литературе*, који има шест потпоглавља, детаљно су обрађени доступни литературни подаци из области која је предмет проучавања дисертације. У првом потпоглављу *Земљиште као станиште микроорганизама* истакнуто је да земљиште представља једну изузетно хетерогену средину у којој се микроорганизми снабдевају угљеником, водом и енергијом и где различите комбинације физичких, хемијских и биолошких карактеристика одређују и усмеравају њихов раст и активност. У потпоглављу *Ризосфера*, кандидаткиња указује да обиље органске материје у овој зони чини ову зону најнасељенијим делом земљишта, а богатство органске материје привлачи микроорганизме који могу имати користан, неутралан или штетан ефекат на биљку. У потпоглављу *Бактерије стимулатори биљног раста* истакнуто је да ефикасна експлоатација корисних бактеријских популација доприноси постизању и одржавању стабилних приноса уз истовремено смањење загађења животне средине. Бактерије

стимулатори раста биљака утичу на биљке низом директних и индиректних механизма. Ови механизми су представљени у четвртом потпоглављу *Механизми деловања бактерија стимулатора биљног раста*. Указано је да директни механизми повећавају доступност нутријената (азотофиксација, солубилизација фосфата, продукција сидерофора) и регулишу хормонски статус биљака а захваљујући индиректним механизмима ови микроорганизми су једна од алтернатива хемијским средствима заштите. У петом потпоглављу *Примена бактерија стимулатора биљног раста* истакнуте су бројне предности примене RGPB у одрживој пољопривредној производњи и шумарству, али су изнета и ограничења која представљају изазов за даља истраживања. У потпоглављу *Екоремедијациони потенцијал бактерија стимулатора биљног раста*, истакнуте су могућности примене ових бактерија у екоремедијацији оштећених земљишта.

Циљеви истраживања. Циљеви дисертације изведени су из полазне хипотезе да земљишне бактерије имају способност стимулације раста биљака и да ту способност могу испољити и у оштећеним екосистемима и на тај начин постају значајна компонента у екоремедијационим технологијама. Циљ дисертације је стварање колекције идентификованих бактеријских популација које стимулишу раст биљака и испитивање ефеката инокулације на раста ратарских и дрвенастих биљних врста. Сагледавајући значај дрвенастих биљних врста у рекултивацији сиромашних супстрата, циљ дисертације је испитивање утицаја RGPB у *in vivo* условима на смрчу (*Picea abies* L. Karst), бели бор (*Pinus sylvestris* L.), багрем (*Robinia pseudoacacia* L.) и платан (*Platanus x acerifolia* (Aiton) Willd.) при гајењу на депосолу рудника РК Колубара.

Материјал и методе. Методе које су коришћене у дисертацији су представљене у једанаест потпоглавља. Изолација бактерија извршена је из: пољопривредног земљишта са салаша Караман (Кисач, Република Србија 45° 22' 34" SGŠ, 19° 46' 14" IGD), шумског земљишта у састојини смрча (*Picea abies* L.) у оквиру Специјалног резервата природе Увац (Нова Варош Република Србија 43°27'29"SGŠ, 19°54'17" IGD); земљишта са високим садржајем органских загађивача - депосол I, (дечији парк Тиват, Република Црна Гора 42°26'07"SGŠ, 18°41'28" IGD), одлагалишта у оквиру РБ Колубара - депосол II, (Лазаревац, Република Србија 44°24'43"SGŠ, 20°22'08"IGD). Хемијске карактеристике земљишта обухватиле су одређивање активне и супституционе киселости; садржај органског угљеника (Tjurin, модификација Simakov-a, 1957); садржај укупног азота по Kjeldahl (Bremner i Keeney, 1965); садржај приступачних облика азота ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ i $\text{NO}_3^-\text{-N}$); садржај приступачних облика P, K (Al-metod, Egner, 1960). Микробиолошка карактеризација земљишта извршена је методом разређења и накупљања на стандардним микробиолошким подлогама. У трећем потпоглављу *Изолација бактерија* истакнуто је да је изолација морфолошки различитих колонија бактерија извршена са МПА и Фјодоровог агара, а методом исцрпљивања и накупљања добијене су чисте културе. Чистоћа култура је проверавана микроскопски (Nikon Eclipse 50i, Јапан). У четвртом потпоглављу *Механизми стимулације биљног раста-директни механизми*, испитана је способност продукције амонијака (NH_3), са Nessler реагенсом, продукција индол-сирћетне киселине (IAA) методом Patten i Glick (2002), продукција сидерофора на CAS агару (Schwyn и Neillands, 1987). АСС деаминазна активност одређена је при расту на Dworkin-Foster (DF) медијуму. Растварање неорганског фосфата је праћено на NBRIP медијуму. У потпоглављу *Механизми стимулације биљног раста-индиректни механизми*, антифугалана активност изолата је утврђена на основу антагонизма према фитопатогеним гљивама *Botrytis cinerea*

и *Pythium aphanidermatum*, тестовима двојних култура на кромпир-декстрозном агару (Merck, Немачка). Продукција цијановодоничне киселине (HCN) је одређена засејавањем на TSA обогаћеним са 4,4 g l⁻¹ глицина (Mahalakshmi и Reetha, 2009) и продукција литичких ензима (липаза, β-глукозидаза, N-ацетил-β-глукозинидаза, протеаза, целулаза), одређена је помоћу API ZYM кита (BioMérieux, Француска) према упутству произвођача. У потпоглављу *Способност површинске и ендифитне колонизације* испитана је способност колонизације код изолата: Z-I ARV; 2T ARV; 333 ARV; 10_ARV; NV5 ARV; D5 ARV; P1 ARV и T10 ARV. За испитивање су коришћена семена слачице, (*Sinapis alba* L.), пшенице (*Triticum vulgare* L.), црвене детелине (*Trifolium pretense* L.) и сунцокрета (*Helianthus annuus* L.). У седмом потпоглављу *Биохемијска идентификација изолата* коришћени су API20E, API20NE и API50CHB (BioMérieux, Француска), а резултати су анализирани помоћу софтера APIWeb, Version-1.1.0. *Молекуларна идентификација изолата* је извршена секвенционирањем продуката добијених амплификацијом секвенце *gyr B* гена који кодира субјединицу В DNK гиразе (топоизомеразе тип II). Добијене секвенце су упоређене са познатим 16S rRNA секвенцама доступним у GenBank бази података (NCBI, Bethesda, Maryland, USA). Од *еколошких карактеристика изолата* испитан је раст на различитим температурама (4°C, 10°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C и 60°C), pH вредностима (од 3,5 до 11) и концентрацијама NaCl (3, 5 и 7 %). Минимална инхибиторна концентрација тешких метала је утврђена на Mueller-Hinton (Merck, USA) медијуму на микротитарским плочама. Испитан је утицај Cu⁺², Cr⁺⁶ и Cd⁺². У десетом потпоглављу *In vivo огледи*, одабрани су изолати Z-I ARV, 10_ARV, D5 ARV, P1 ARV и њихов конзорцијум за праћење утицаја на раст биљака. Ефекти инокулације су праћени код слачице, пшенице, црвене детелине и сунцокрета. Биљке су гајене на депосолу из рударског басена РБ Колубара (Србија). Ефекат инокулације на црвену детелину (*Trifolium pretense* L.), праћен је у периоду од три месеца при расту на депосолу из рударског басена и депосолу са високим садржајем органских загађивача (Тиват, Црна Гора). За праћење утицаја инокулације на раст дрвенастих врста одабране су једногодишње саднице багрема и платана и двогодишње саднице белог бора и смрче. Прва мерења висине садница и пречника врата корена су обављена након 18 недеља од инокулације, а на крају вегетационог периода саднице су извађене из супстрата и мерена је висина биљака, пречник врата корена и сува биомаса корена и надземног дела и корена. У потпоглављу *Статистичка обрада резултата* је наведено да су резултати анализирани једнофакторском и двофакторском анализом варијансе (ANOVA). За статистичку обраду података је коришћен SPSS 22 софтверски пакет (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Резултати и Дискусија. Резултати истраживања обрађени су у оквиру једанаест потпоглавља и приказани су уз текстуална тумачења, слике, прегледне табеле и графиконе који илуструју истраживања, а добијени резултати су дискутовани уз концизна тумачења. У првом потпоглављу *Хемијске карактеристике земљишта*, истакнуте су разлике у погледу садржаја хумуса, есенцијалних нутријената (N, P, K) и pH вредности. Пољопривредно, шумско земљиште и депосол I се одликује високим садржајем хумуса, за разлику од депосола II (0,15%). Резултати основних хемијских анализа су показали да постоје разлике између супстрата одабраних за *in vivo* огледе. У поглављу *Микробиолошке карактеристике земљишта* утврђене су разлике у бројности укупних бактерија, гљива, актиномицета, укупних и спорогених амонификатора и укупних диазотрофа. Највећа бројност укупних бактерија, гљива и актиномицета је констатована у пољопривредном земљишту и депосолу I, док је најмања бројност укупних бактерија (0,41 x 10⁷ CFU g⁻¹),

гљива ($0,01 \times 10^6$ CFU g⁻¹) и актиномицета ($3,34 \times 10^4$ CFU g⁻¹) констатована у депосолу II, који се одликује са ниским садржајем хумуса. У поглављу *Изолација бактерија из земљишта*, истакнут је значај представника рода *Bacillus* и слободних азотофиксатора у екоремедијационим технологијама и представљене су основне карактеристике (облик ћелије, бојење по Граму, присуство спора и покретљивост) 44 бактеријска изолата. У поглављу *Директни механизми стимулације биљног раста*, односно механизма који повећавају снабдевање биљака неопходним нутријентима или синтезом хормона истакнуто је да од укупног броја тестираних изолата, бар један од тестираних ефеката има 38 изолата, док 18N ARV, Z-6k ARV, E ARV, 1 ARV, 2 ARV и 7 ARV нису показали ниједан од тестираних механизма. Већина изолата је имала два или више директних механизма утицаја на раст биљака. Највећи број тестираних изолата продукује амонијак, што потврђују бројна истраживања да велики број земљишних бактерија има способност амонификације. Највећа продукција IAA је утврђена код изолата 333 ARV ($26,40 \mu\text{g ml}^{-1}$) и 10 ARV ($44,50 \mu\text{g ml}^{-1}$ IAA). Један од начина снабдевања биљака и бактерија гвожђем је продукција молекула мале молекулске масе и високог афинитета према Fe⁺³, односно сидерофора. Екскрецијом сидерофора бактерије стимулишу раст биљака, директно побољшавајући исхрану биљака путем смањења доступности гвожђа фитопатогеним микроорганизмима у окружењу биљака. Од 44 тестирана изолата способност продукције сидерофора је забележена код 11 бактеријских изолата. Највећу способност растворљивости фосфата показали су изолати P1 ARV и Z-I ARV који су имали солубилизациони индекс 2,7 и 2,6 а најмањи солубилизациони индекс (1,5) је констатован код изолата NV5 ARV изолованог из шумског земљишта. У петом потпоглављу представљени су *Индиректни механизми стимулације биљног раста*, односно механизми који утичу на смањење или спречавање штетног утицаја једног или више фитопатогених микроорганизама. Од 44 тестираних изолата, 22 су имала инхибиторно дејство на тестиране фитопатогене. Изолат D5 ARV испољио је веома високу антифунгалну активност (83%) према *Botrytis cinerea*, док су најмању антифунгалну активност (17%) имала два изолата (NV6 ARV и GSP ARV). Резултати добијени у дуал тесту са *Pythium aphanidermatum* су показали су да је антагонистичка активност класификована као ниска. Бактерије стимулатори биљног раста могу сузбијати биљне патогене продукцијом литичких ензима који могу деградирати ћелијски зид патогена. Истраживања су показала да је изолат Z-I ARV, изолован из депосола I, показао способност продукције низа ензима (липазе, β -глюкозидазе, N-ацетил- β -глюкозаминидазе, протеазе), што може бити разлог његове високе антифунгалне активности према *Botrytis cinerea*. У хитинолитичке ензиме спада и N-ацетил- β -глюкозаминидаза, а присуство овог ензима је констатовано код изолата Z-I ARV, G1SP ARV, 333 ARV, P1 ARV који су инхибирали раст *B. cinerea* за $\geq 50\%$. У потпоглављу *Површинска колонизација семена и корена биљака PGP изолатима*, истакнуто је да су сви тестирани изолати имали способност колонизације површине семена и да је највећи број изолата показао највећу бројност на семену сунцокрета која је износила од 10^6 - 10^8 CFU. Семе сунцокрета је највише колонизовао изолат P1 ARV (7×10^8 CFU). Колонизација корена и опстанак PGPB у ризосфери су неопходни за испољавање стимулативног ефекта. Колонизација корена зависи од бројних фактора, као што су карактеристике изолата, састав ексудата и абиотички фактори. Највећи број изолата је показао највећу колонизацију корена сунцокрета, што је у сагласности са резултатима колонизације семена. Колонизацијом ткива се ствара интимна веза између бактерија и биљака при чему су бактерије заштићене од стресова спољашње средине и конкуретних

микробних заједница. Испитивани изолати су показали способност да продру и населе унутрашња ткива корена слачице, пшенице, црвене детелине и сунцокрета. Резултати ових истраживања представљени су у поглављу *Ендофитна колонизација корена PGP изолата*. Највећа ендофитна колонизација уочена је код изолата 10_ARV, а најмања код изолата NV5 ARV код којих је број кретао од 10^1 до 10^3 CFU g⁻¹. Испитивани изолати су ендофитно највише колонизовали корен сунцокрета а најмање црвену детелину. Истакнуто је да степен колонизације PGPB није увек у вези са степеном промоције раста биљака. На основу добијених резултата и PGP карактеристика за даља истраживања одабрани су изолати Z-I ARV, 10_ARV, D5 ARV и P1 ARV. У осмом потпоглављу *Биохемијска идентификација изолата* представљени су резултати идентификације тестираних изолата и констатовано је да изолат Z-I ARV припада *Serratia liquefaciens* (64,9%) и *S. marcescens* (35%), изолат D5 ARV је показао највећи степен сличности са *Bacillus amyloliquefaciens* (78,2%), изолат P1 ARV је показао највећу сличност са *Pseudomonas putida* (99,5%). Изолат 10_ARV након претраге базе података није показао сличност ни са једним изолатом. Ради прецизне и поуздане идентификације одабраних изолата извршена је *Молекуларна идентификација изолата* и резултати су изнети у деветом потпоглављу. Након екстракције ДНК и амплификације секвенце *gus* В гена добијена су четири продукта која су секвенционирана. Електрофоретска анализа продукта показала је да су добијени фрагменти очекиване дужине од око 1000 bp (*Serratia* sp., *Pseudomonas* sp.), 1300 bp (*Ensifer* sp., *Bacillus* sp.). BLAST анализом секвенци амплификованих продукта сви изолати су успешно идентификовани до нивоа врсте. Изолат Z-I ARV идентификован је као *Serratia liquefaciens*; 10_ARV као *Ensifer adhaerens*; D5 ARV као *Bacillus amyloliquefaciens*; P1 ARV као *Pseudomonas putida*. У потпоглављу *Еколошке карактеристике изолата* указано је на значај еколошких фактора у регулацији PGP активност и ефикасности у практичној примени инокулације. Широка еколошка валенца у односу на температуру је од великог значаја за примену инокулације у пољским условима.

Изолати *S. liquefaciens* Z-I ARV, *E. adhaerens* 10_ARV, и *B. amyloliquefaciens* D5 ARV су показали раст на температури до 40°C, а изолат *B. amyloliquefaciens* D5 ARV, пореклом из депосола II, показао је способност раста на температури до 55°C. Вредности рН од 5 до 9 су одговарале за раст свим тестираним изолатима. Изолат *S. liquefaciens* Z-I ARV је растао на минималној рН вредности од 4, а изолати *S. liquefaciens* Z-I ARV и *E. adhaerens* 10_ARV су показали раст до рН вредности 10,5. У циљу потенцијалне примене инокулације у срединама са високим садржајем метала испитана је отпорност изолата на бакар, хром и кадмијум. Изолати су показали способност преживљавања при 0,15-10 mM Cu²⁺; 0,15-0,3 mM Cr⁶⁺ а *S. liquefaciens* Z-I ARV, *E. adhaerens* 10_ARV и *P. putida* P1 ARV толеришу 5 mM Cd²⁺. Једанаесто потпоглавље *Утицај инокулације PGP бактеријама на раст биљака* се састоји из дела у коме су представљени ефекти инокулације на раст ратарских култура и другог дела где су представљени ефекти инокулације на раст дрвенастих врста. Ефекти инокулације PGPB зависе од низа фактора, пре свега карактеристика изолата, тестиране биљне врсте, интеракције са аутохтоном микрофлором, карактеристика земљишта и др. Резултати истраживања показали су да је инокулација са *S. liquefaciens* Z-I ARV стимулативно утицала на испитиване биљне врсте, осим на сунцокрет. Стимулативни ефекат је уочен на испитиваним параметрима раста, изузев дужине корена и укупне биомасе код сунцокрета и висине биљке код слачице. Слични ефекти добијени су и при инокулацији са *E. adhaerens* 10_ARV. Инокулација са

B.amyloliquefaciens D5 ARV је стимулисала раст корена, висину биљке и укупну биомасу код испитиваних биљних врста осим висине биљака код слачице и укупне биомасе код црвене детелине и сунцокрета где је смањење биомасе износило 5, односно 8%. Инокулација са *P. putida* P1 ARV је стимулисала раст корена код свих биљних врста, висину биљке код свих осим слачице и укупну биомасу код свих осим код сунцокрета. Инокулација са мешаним инокулумом је стимулисала раст корена, висину биљака и укупну биомасу код свих тестираних биљака осим висине биљака код слачице и укупне биомасе код сунцокрета. Најмањи стимулативни ефекат уочен је код сунцокрета. У циљу избора најефикаснијих изолата PGPB да стимулативне ефекте испоље у оштећеним земљиштима испитани су ефекти инокулације црвене детелине (*Trifolium pretense* L.) при расту у депосолу II и депосолу I. Поређење висина биљака инокулисаних мешаним инокулумом, *E. adhaerens* 10_ARV и *P. putida* P1 ARV са контролом у депосолу II показује да је инокулација довела до значајне стимулације раста биљака на нивоу значајности од 0,01. Инокулација са *S. liquefaciens* Z-I ARV и *B. amyloliquefaciens* D5 ARV није статистички значајно утицала на висину биљака. Инокулација са мешаним инокулумом као и са *E. adhaerens* 10_ARV и *P. putida* P1 ARV статистички значајно је утицала на раст биљака и након другог кошења. Највећи утицај на висину биљке имао је мешани инокулум (6,60cm). Инокулација са *P. putida* P1 ARV у депосолу II је статистички значајно утицала на стимулацију раста и након трећег кошења. *In vivo* експерименти са дрвенастим врстама трајали су осам месеци а као супстрат је коришћен депосол II из РБ Колубара. Највећа забележена висина багрема (*Robinia pseudoacacia* L.), у јулу, измерена је код инокулисаних садница (61,13 cm) и поређењем са контролом у депосолу II је статистички значајно виша (ниво значајности од 0,05), као и у октобру (76,65 cm). Стимулативни ефекти инокулације констатовани су и при инокулацији платана. Висина инокулисаних биљака у јулу (37,00 cm) и октобру (42,60 cm) је била статистички значајно виша у односу на контролу у депосолу II. Поређењем висине инокулисаних биљака белог бора са контролом у депосолу II констатује се да не постоје статистички значајне разлике. Поређењем биомасе надземног дела, инокулисаних садница садница багрема, платана и белог бора са контролом у депосолу II уочава се статистички значајно већа биомаса, што указује на стимулативан ефекат инокулација на биомасу. Најбољи ефекти инокулације су забележени код платана где је дошло до стимулације свих испитиваних параметара раста. У поглављу **Закључак** кандидаткиња је у кратким тезама изнела најрелевантније закључке до којих је дошла на основу експерименталних истраживања. Применом стандардних микробиолошких техника уочена је различита биогеност земљишта одабраних за ова истраживањима. Укупан број бактерија у испитиваним узорцима кретао се од $0,29 \times 10^7$ CFU/g до $8,52 \times 10^7$ CFU/g. Највећа бројност је забележена у пољопривредном земљишту, које се одликује високим садржајем хумуса (3,68%), алкалном реакцијом средине pH (у H₂O-8,3), покривено је вегетацијом и користи се у органској пољопривреди. Најмања бројност је у депосолу II, који се одликује ниским садржајем хумуса (0,15%) и настао је као резултат рударске активности. Формирана је колекција од 44 изолата, од којих 38 је поседовало бар једано PGP својство. Најзаступљенији механизам директне стимулације раста је продукција амонијака и индол-3-сирћетне киселине што указује да велики број изолата утиче директним механизмима на раст биљака. Истраживања везана за индиректне PGP механизме показала су да међу испитиваним изолатима постоје потенцијални биоконтролни агенси, односно изолати NV5 ARV, Z-I ARV и 2T ARV имају високу, однос веома високу (D5 ARV) антагонистичку

активност према *Botrytis cinerea*. На основу PGP карактеристика и способности колонизације семена и корена за даља истраживања одабрани су изолати Z-I ARV; D5 ARV; P1 ARV и T10 ARV. Испитивањем утицаја инокулације на раст слачице, пшенице, црвене детелине и сунцокрета у раним фазама раста уочено је да успех инокулације зависи од бактеријског изолата и тестиране биљне врсте што указује на значај биљно-микробне интеракције у инокулацији. Уочен је и различит утицај у зависности од параметара раста. Инокулација слачице (*Sinapis alba* L.) са *S. liquefaciens* Z-I ARV, *E. adhaerens* 10_ARV, *P. putida* P1 ARV и *B. amyloliquefaciens* D5 ARV је статистички значајно стимулисала раст корена а инокулација са *S. liquefaciens* Z-I ARV је највише утицала на дужину корена (3,18 cm) и суву биомасу (0,48 g). Највећи утицај на биомасу *Triticum vulgare* L. је имао мешани инокулум (2,47 g), док су *S. liquefaciens* Z-I ARV, *E. adhaerens* 10_ARV, *B. amyloliquefaciens* D5 ARV и мешани инокулум статистички значајно утицали на висину биљке и дужину корена црвене детелине. Мешани инокулум и *B. amyloliquefaciens* D5 ARV су статистички значајно утицали на висину сунцокрета. Одабрани PGP бактеријски изолати су стимулисали раст црвене детелине гајене у периоду од три месеца на депосолу са високим садржајем органских загађивача. Статистички значајан утицај инокулације на раст црвене детелине гајене у депосолу са високим садржајем органских загађивача указује на могућу примену изолата *B. amyloliquefaciens* D5 ARV и *P. putida* P1 ARV у екоремедијационим технологијама. Статистички значајно повећање раста корена (8,63cm), као резултат инокулације са *S. liquefaciens* Z-I ARV указује на значај овог изолата. Пораст биомасе надземног дела (75%) и корена (90%) платана, инокулисаног са мешаним инокулумом (*Serratia liquefaciens* Z-I ARV, *Ensifer adhaerens* 10_ARV, *Bacillus amyloliquefaciens* D5 ARV и *Pseudomonas putida* P1 ARV) при расту на депосолу из РБ Колубара, указује на могући правац ревегетације рудничких депосола.

Литература. У дисертацији је на правилан начин наведено 337 референци. Избор референци је актуелан и одговара предмету проучавања.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација Вере Карличић, дип. инж. под насловом: »Бактерије стимулатори биљног раста као потенцијал у екоремедијацији оштећених земљишта«, представља самостални научни рад који је у потпуној сагласности са планом предвиђеним пријавом дисертације. Ова докторска дисертација даје значајан допринос бољем разумевању механизма *PGPB* и указује на важност познавања биљно-микробних интеракција у биоремедијацији оштећених екосистема. Кандидаткиња је у експерименталном делу истраживања успешно применила различите методе које су јој омогућиле добијање релевантних резултата које је правилно тумачила и коментарисала у складу са расположивим литературним подацима. Закључци су добро формулисани и правилно изведени и у потпуности произилазе из добијених резултата. Формирана колекција *PGPB* представља добру основу за даља научна истраживања, али указује и на примену ових бактерија у одрживој пољопривредној производњи, шумарству и екоремедијацији оштећених земљишта. Дисертација представља оригиналан научни рад актуелан и значајан, с обзиром да истраживања у Србији, везана за примену *PGPB* у шумарству и искоришћавању рудничких депосола нису до сада вршена и тако указује на могући правац

ревегетације рудничких депосола. Такође, утврђено је да интеракција између црвене детелине (*Trifolium pretense*) и *B. amyloliquefaciens* D5 ARV, *P. putida* P1 ARV и *S. liquefaciens* Z-I ARV има потенцијал у екоремедијацији земљишта са високим садржајем органских загађивача.

Имајући у виду све изнето, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију кандидаткиње Вере Карличић, дипл. инж. под насловом: »Бактерије стимулатори биљног раста као потенцијал у екоремедијацији оштећених земљишта», и предлаже Научно-наставном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, да ову позитивну оцену усвоји и тиме омогући кандидаткињи јавну одбрану.

У Београду,
05.04.2017.

Чланови комисије:

Др Вера Раичевић, редовни професор
Ужа научна област: Еколошка микробиологија
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

Др Блажо Лалевић, ванредни професор
Ужа научна област: Еколошка микробиологија
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

Др Весна Голубовић-Ћургуз, ванредни професор
Ужа научна област: Заштита шума и украсних биљака
Универзитет у Београду, Шумарски факултет

Др Јелена Јовичић-Петровић, доцент
Ужа научна област: Еколошка микробиологија
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

Др Филис Морина, научни сарадник
Ужа научна област: Екофизиологија и биохемија биљака
Универзитет у Београду, Институт за мултидисциплинарна истраживања

Прилог:

Сепарат објављеног рада Вере Карличић, дипл. инж. у научном часопису на SCI листи

Atanaskovic, I., Jovicic-Petrovic, J., Biocanin, M., **Karlicic, V.**, Raicevic, V., Lalevic, B. (2016): Stimulation of diesel degradation and biosurfactant production by aminoglycosides in a novel oil-degrading bacterium *Pseudomonas luteola* PRO23. *Hemijska industrija* 70:143-150.