

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На VII редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 15.05.2026. године, на основу молбе ментора, др Драгане Николић, вишег научног сарадника Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство Универзитета у Београду, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације **Софије Б. Нешић**, истраживача сарадника, Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство Универзитета у Београду, под насловом: „**Молекуларне основе интеракција корисних ендодитних бактерија са *Arabidopsis thaliana***“, у саставу:

1. др Анета Сабовљевић, редовни професор, Универзитет у Београду – Биолошки факултет.
2. др Јелена Самарцић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду – Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство;
3. др Светлана Соковић Бајић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду – Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство

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

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација Софије Б. Нешић под насловом „Молекуларне основе интеракција корисних ендодитних бактерија са *Arabidopsis thaliana*“ представља оригинално истраживање са темом карактеризације интеракција корисне ендодитне бактерије *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN са биљном врстом *A. thaliana* у оптималним условима раста и у стресу изазваном фунгалним фитопатогеном *Botrytis cinerea*, са фокусом на експресију гена и испитивање укључености малих РНК (сРНК) и бактеријских екстрацелуларних везикула у овим процесима.

Ова докторска дисертација реализована је у Групи за молекуларну биологију биљака Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство Универзитета у Београду.

Докторска дисертација написана је на 121 страни, садржи 49 слика и 20 табела. Дисертација је подељена на 8 основних поглавља: Увод (24 стр.), Циљеви истраживања (1 стр.), Материјал и методе (20 стр.), Резултати (46 стр.), Дискусија (14 стр.), Закључци (1 стр.), и Литература (13 стр.). Поглавља Увод, Материјал и методе, Резултати и Дискусија садрже више потпоглавља. Пре основног текста, докторска дисертација садржи: Насловну страну на српском и енглеском језику, Податке о менторима и члановима комисије, Резиме на српском и енглеском језику са кључним речима, Списак скраћеница и Садржај. На крају текста дисертације приложени су: Биографија аутора, Изјава о ауторству, Изјава о истовестности штампане и електронске верзије докторске дисертације, и Изјава о коришћењу.

Анализа докторске дисертације

Поглавље **Увод** докторске дисертације садржи седам потпоглавља. У њему су сажето приказани подаци из литературе који су непосредно повезани са темом докторске дисертације.

У потпоглављу „Корисне ризосферне и ендодитне бактерије“ представљени су типови интеракција микроорганизама са биљкама, колонизација биљних ткива и успостављање мутуализма између биљака и корисних бактерија (*PGPB*, енг. *Plant Growth Promoting Bacteria*) са освртом на *P. phytofirmans* PsJN, сој који је коришћен као модел организам у овој дисертацији.

У потпоглављу „Механизми одговора биљака на стрес“ описане су фазе одговора биљака на абиотички и биотички стрес као што су перцепција сигнала стреса, сигнална трансдукција и механизми одбране. Описана је и системска резистенција код биљака као механизам одбране који се јавља у биљним органима који су удаљени од иницијалног места инфекције. Укратко су изнете и опште карактеристике модела фитопатогене гљиве *B. cinerea*.

Потпоглавље „Промене у експресији кодирајућих и некодирајућих РНК у биљкама током интеракције са патогеним и корисним микроорганизмима“ садржи кратак преглед промена у експресији гена и малих РНК током интеракција са микроорганизмима.

Потпоглавље „Екстрацелуларне везикуле“ почиње кратким историјским освртом на откриће екстрацелуларних везикула (ЕВ) и на њихово учешће као и учешће екстрацелуларних сРНК асоцираних са ЕВ у комуникацији између ћелија и организама. У овом потпоглављу детаљно су описане ЕВ Грам-негативних бактерија (ОМВ, енг. *Outer Membrane Vesicles*) и представљени начини уласка ОМВ бактерија у реципијентне ћелије.

У потпоглављу „Некодирајуће РНК пореклом од бактерија“ описане су регулаторне РНК које чине главне посттранскрипционе регулаторе експресије гена. У оквиру овог поглавља представљене су три групе некодирајућих РНК бактерија: мале регулаторне РНК, рибопрекидачи и РНК термосензори.

У потпоглављу „Улога бактеријских ЕВ и сРНК у комуникацији између ћелија и организама“ описане су *intra-kingdom* и *cross-kingdom* комуникације посредоване бактеријским ЕВ и сРНК са посебним освртом на интеракцију бактерија са биљкама.

Последње поглавље Увода „Потенцијална примена ОМВ у биомедицини и пољопривреди“ садржи кратак преглед потенцијалне примене ЕВ бактерија у оквиру домена савремене терапије и дијагностике, укључујући вакцине, имунотерапију, аплицирање лекова, антимикуробну стратегију и биомаркере. Потенцијална примена бактеријских ЕВ као биоконтролних агенаса чини еколошки прихватљиву и одрживу алтернативу конвенционалној пољопривреди.

У поглављу **Циљеви рада** јасно су дефинисана четири главна научна циља докторске дисертације. Први циљ се односи на испитивање способности ендодитне бактерије *P. phytofirmans* PsJN да повећа отпорност биљака врсте *A. thaliana* на инфекцију изазвану фунгалним фитопатогеном *B. cinerea*. Следећи циљ се односи на одређивање утицаја *P. phytofirmans* PsJN на експресију гена и малих РНК *A. thaliana* у оптималним условима гајења као и током биотичког стреса изазваног фунгалним фитопатогеном *B. cinerea*. Наредни циљеви се односе на тестирање хипотезе да ЕВ ендодитних бактерија могу интераговати са

биљним ћелијама, као и анализа секвенци сРНК изолованих из ЕВ соја *P. phytofirmans* PsJN и њихово поређење са сРНК изолованих из ћелија овог соја.

У поглављу **Материјал и методе** описане су савремене методе микробиологије, молекуларне биологије и биоинформатике коришћене у реализацији постављених циљева. Ово поглавље се састоји од седам потпоглавља у којима је груписано 35 мањих целина са описима детаљних методолошких поступака коришћених у овој тези.

У првом потпоглављу „Биљни материјал и услови гајења“ наведене су биљне врсте које су коришћене у овој дисертацији, протокол стерилизације семена, као и услови гајења (температурни режим, режим и интензитет светла и влажност ваздуха) на чврстим подлогама, у земљи и у хидропоници.

Потпоглавље „Процедуре рада са *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN“ обухвата медијуме коришћене при гајењу PsJN у зависности од експерименталне поставке, услове гајења овог соја, као и процедуре инокулације биљака у земљи и хидропоници.

У потпоглављу „Процедуре рада са *Botrytis cinerea*“ описана је методологија рада са фитопатогеном гљивом *B. cinerea*, медијуми потребни за гајење и услови гајења овог патогена.

Потпоглавље „Заражавање биљака гљивом *B. cinerea*“ чине описи метода припреме спора и биљака за заражавање, заражавања биљака и анализу симптома заразе кроз величину некротичних лезија и детекцију водоник пероксида у зараженим листовима, као и узорковање и услове чувања узорака биљака.

У потпоглављу „Процедуре рада са РНК из биљног ткива“ описане су методе изолације РНК, третман дезоксирибонуклеазом и анализа РНК на РНК чипу, као и секвенцирање и биоинформатичка обрада секвенци РНК изолованих из узорака листова и корена 24 сата након инфекције *B. cinerea*.

У потпоглављу „Рад са екстрацелуларним везикулама“ описане су методе изолације и карактеризације ОМВ *P. phytofirmans* PsJN, квантификација липополисахарида и протеина ОМВ, припрема узорака за посматрање на трансмисионој и скенирајућој електронској микроскопији, обележавање везикула липидним бојама и уклањање неvezане боје, и праћење интеракције ОМВ са кореновима *A. thaliana* и парадајза уз помоћ конфокалне ласерске скенирајуће микроскопије.

У последњем потпоглављу „Процедуре рада са РНК асоцираних са ОМВ“ описане су методе коришћене током изолације сРНК молекула из ОМВ и ћелија соја *P. phytofirmans* PsJN, приступи секвенцирања и биоинформатичка обрада добијених секвенци.

У складу са природом података и дизајном експеримента примењени су одговарајући статистички тестови за проверу поузданости добијених резултата.

У поглављу **Резултати** јасно су представљени резултати добијени у овом истраживању. Уз прегледне табеле, слике и прецизна тумачења, читалац може да прати ток спроведених истраживања.

У потпоглављу „Успостављање патосистема *Arabidopsis thaliana* - *Botrytis cinerea*“ представљена је оптимизација протокола за заражавање модел биљке *A. thaliana* са спорама фитопатогена *B. cinerea*.

У потпоглављу „Протективно дејство PGPB *P. phytofirmans* PsJN током инфекције фитопатогеном *B. cinerea*“ представљени су резултати истраживања везани за тестирање

способности соја *P. phytofirmans* PsJN да подиже одбрамбени одговор биљака *A. thaliana* гајених у земљи и хидропоници након инфекције фитопатогеном гљивом *B. cinerea*. Инокулација коренова биљака сојем *P. phytofirmans* PsJN доводи до смањених некротичних лезија и веће акумулације H₂O₂ у листовима током инфекције *B. cinerea*.

Потпоглавље „Анализа транскриптома биљака *A. thaliana* након инокулације сојем *P. phytofirmans* PsJN и инфекције патогеном *B. cinerea*“ садржи резултате транскриптомске анализе РНК изоловане из корена и листова биљака које су инокулисане или не сојем *P. phytofirmans* PsJN и заражене или не патогеном *B. cinerea*. Ово потпоглавље чине две целине: „*P. phytofirmans* PsJN модулише експресију гена повезаних са абиотичким стресом“ и „*P. phytofirmans* PsJN модулише експресију гена повезаних са биотичким стресом“.

У потпоглављу „Анализа малих РНК *A. thaliana* након инокулације сојем *P. phytofirmans* PsJN и инфекције патогеном *B. cinerea*“ приказани су обрасци експресије миРНК у ткиву *A. thaliana* под утицајем инокулације сојем *P. phytofirmans* PsJN и инфекције патогеном *B. cinerea*.

У потпоглављу „Анализа ко-експресије миРНК *A. thaliana* и њихових предикованих таргета“ приказани су резултати интегративне анализе података транскриптома и секвенци малих РНК молекула.

У потпоглављу „Карактеризација екстрацелуларних везикула соја *P. phytofirmans* PsJN и интеракција са кореном *A. thaliana*“ приказани су резултати различитих метода изолације екстрацелуларних везикула PsJN, описана је карактеризација ОМВ соја *P. phytofirmans* PsJN, биоинформатичка анализа малих РНК асоцираних са *P. phytofirmans* PsJN-ОМВ и предикција њихових таргета. У овом поглављу су приказане и микрографије интеракције ОМВ соја *P. phytofirmans* PsJN са клијанцима *A. thaliana* и парадајза, укључујући и фузију ОМВ са мембранама епидермалних ћелија корена ових биљака.

Поглавље **Дискусија** садржи критичку анализу добијених резултата и упоредну анализу са подацима документованим у досадашњој научној литератури. У њему је кандидаткиња разматрала деловање ендофитне бактерије *P. phytofirmans* PsJN на биљку *A. thaliana*, како у оптималним условима раста, тако и током биотичког стреса изазваног фитопатогеном *Botrytis cinerea*.

У потпоглављу „Стимулација раста биљака *A. thaliana* након инокулације сојем *P. phytofirmans* PsJN“ показано је да ова бактерија позитивно утиче на биомасу и физиолошке параметре раста, уз промене у експресији гена повезаних са хормонским сигналним путевима. Ови резултати су у складу са ранијим студијама које су указале на улогу PsJN у подстицању раста и развоја биљака.

У потпоглављу „Протективно дејство РГРВ *P. phytofirmans* PsJN на биљке *A. thaliana* инфициране фитопатогеном *B. cinerea*“ први пут је показано да овај сој ублажава симптоме инфекције *B. cinerea* код *A. thaliana*, што указује на системско деловање и укљученост механизма индуковане системске резистенције. Анализе транскриптома потврдиле су да PsJN изазива локално и системско ремоделовање експресије гена, укључујући гене повезане са етиленским путем, протеолизом и сигналним каскадама. Посебно је наглашен *priming* ефекат којим PsJN припрема биљку за бржи и јачи одговор на патогене.

Потпоглавље „Екстрацелуларне везикуле Грам-негативних бактерија“ представља свеобухватну анализу улоге ових структура у комуникацији између бактерија и домаћина. Кандидат је најпре приказао податке из литературе који показују да ОМВ патогених

бактерија носе факторе вируленције и могу изазвати имуносупресију или олакшати инфекцију. Посебно је наглашено да је механизам интеракције ОМВ корисних ризосферних и ендофитних бактерија са биљним ћелијама још увек недовољно разјашњен. Тестирањем различитих алата за мапирање показано је да је неопходно испробати више алгоритама ради поузданости анализе. Анализа малих РНК асоцираних са ОМВ соја *P. phytofirmans* PsJN је показала да се популација малих РНК добијених из изолата ОМВ значајно разликује од оне унутар бактеријских ћелија, што указује на селективно паковање. Уочене су дужине РНК сличне дужинама еукариотских миРНК, а на основу предикције таргета, РНК које могу бити укључене у регулацију *quorum sensing*-а и других процеса у бактеријској популацији. Анализа генске онтологије предикованих таргета указала је на високу заступљеност гена за мембранске протеине и транспортере, што је важно за адаптацију микроорганизама и интеракцију са биљком домаћином.

У поглављу **Закључци** кандидат је јасно сумирао резултате своје докторске дисертације кроз осам појединачних закључака. Закључци су правилно изведени и у потпуности произилазе из добијених резултата истраживања.

1. Бактеријски сој *P. phytofirmans* PsJN изазива индуковану системску резистенцију ИСР код *A. thaliana* заражених патогеном *B. cinerea*.
2. Компаративна транскриптомска анализа је показала да *P. phytofirmans* PsJN изазива диференцијалну експресију гена *A. thaliana* укључених у одговоре на абиотички и биотички стрес.
3. У корену *A. thaliana*, *P. phytofirmans* PsJN је претежно смањио експресију гена повезаних са перцепцијом микроорганизама, сигналним путевима и имунским одговором, што указује да је овај сој локално изазвао слабљење одбрамбених реакција биљке како би олакшао колонизацију и одржавање мутуалистичког односа са *A. thaliana*.
4. У листовима *A. thaliana*, повећана експресија гена повезаних са одбраном, пре инфекције са *B. cinerea*, у комбинацији са заштитним ефектом PsJN који је евидентан у каснијим фазама инфекције, сугерише да бактеријска инокулација припрема биљке за појачан системски имунски одговор на напад патогена.
5. Упоредном анализом доступних алата за мапирање показано је да је за ОМВ-сРНК анализу потребно испробати више различитих алата, упоредити добијене метрике, а затим се одлучити за најпогоднији мапер или пак комбинацију више мапера како би се што прецизније урадила анализа.
6. Анализа ОМВ-сРНК пореклом од соја *P. phytofirmans* PsJN је показала да се сРНК асоциране са ОМВ разликују од популације сРНК које се налазе унутар бактеријских ћелија, што указује да паковање ових биомолекула у ОМВ није насумичан процес, већ резултат селекције.
7. Предиковани таргети сРНК обogaћених у *P. phytofirmans* PsJN-ОМВ указују на њихову потенцијалну улогу у регулацији гена укључених у трансмембрански транспорт и међућелијску комуникацију.

8. *P. phytofirmans* PsJN продукује ОМВ које директно долазе у контакт са коренима *A. thaliana* и *S. lycopersicum*, и фузионишу се са мембранама њихових епидермалних ћелија.

У поглављу **Литература** представљена је листа која обухвата 204 библиографских јединица. Наведени извори адекватно покривају све појединачне тематске целине дисертације, укључујући области молекуларне биологије биљака, фитопатологије и молекуларне микробиологије, области екстрацелуларних везикула и интеракције бактерија са домаћином. Цитирани литературни извори су актуелни, релевантни и омогућили су постављање научне основе за извођење овог истраживања, као и интерпретацију добијених резултата и формулисање закључака.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Nešić S**, Bosnić D, Samardžić J, Nikolić I, Aziz A, Nikolić D, 2025. *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN triggers local and systemic transcriptional reprogramming in *Arabidopsis thaliana* and increases resistance against *Botrytis cinerea*. *Frontiers in Plant Science* 16. (M21a) <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1554036>
2. Banović Đeri B, **Nešić S**, Vičić I, Samardžić J, Nikolić D, 2024. Benchmarking of five NGS mapping tools for the reference alignment of bacterial outer membrane vesicles-associated small RNAs. *Frontiers in Microbiology* 15, 1401985. (M21) <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1401985>

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Nešić, S.**, Bosnić, D., Divac Rankov, A., Kosanović, M., Spasovski, V., Nikolić, I., Samardžić, J., Aziz, A., & Nikolić, D. (2025). Beneficial interaction of *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN with *Arabidopsis thaliana*: macro effects and communication on a nanoscale. In 6th Plant Microbiome Symposium.
2. **Nešić, S.**, Bosnić, D., Divac Rankov, A., Kosanović, M., Samardžić, J., Banović Đeri, B., & Nikolić, D. (2025). Outer membrane vesicles (OMVs) secreted by *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN: characterization of associated RNA content and interaction with plant cells. In Arturo Falaschi Conference "Cell-cell communication in bacteria: new insights and future trends" (pp. 65-65).
3. **Nešić, S.**, Nikolić, I., Samardžić, J., Bosnić, D., & Nikolić, D. (2024). Plant beneficial bacteria *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN protects *Arabidopsis thaliana* against fungal pathogen *Botrytis cinerea*. In International Conference on Plant Biology (pp. 48-48). Serbian Plant Physiology Society.
4. Nikolić, D., **Nešić, S.**, Divac Rankov, A., Bosnić, D., Spasovski, V., Kosanović, M., & Samardžić, J. (2024). *Arabidopsis thaliana* root cells interact with outer membrane vesicles (OMVs) produced by plant beneficial bacterial strain *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN. In 2nd MOVE Symposium. Serbian Society for Extracellular Vesicles (SrbEVs).

5. **Nešić, S.**, Divac Rankov, A., Spasovski, V., Kosanović, M., & Nikolić, D. (2023). Outer membrane vesicles of plant beneficial bacterial strain *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN make a contact with *Arabidopsis thaliana* roots. In ICGEB WORKSHOP: Trends in microbial solutions for sustainable agriculture (pp. 89-89). Belgrade: Faculty of Biology.
6. **Nešić, S.**, Pantelić, A., Samardžić, J., & Nikolić, D. (2023). Characterization of outer membrane vesicles of plant growth promoting bacteria *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN. In ICGEB WORKSHOP: Trends in microbial solutions for sustainable agriculture (pp. 72-72). Belgrade: Faculty of Biology.
7. Banović Đeri, B., **Nešić, S.**, Pantelić, A., Samardžić, J., & Nikolić, D. (2023). Impact of different mapping tools on detection of small RNAs in bacterial outer membrane vesicles. In *4th Belgrade Bioinformatics Conference* (Vol. 4, pp. 85-85). Belgrade: Institute of molecular genetics and genetic engineering.
8. Nikolić, D., **Nešić, S.**, Divac Rankov, A., Samardžić, J., Pantelić, A., Spasovski, V., Banović Đeri, B., & Kosanović, M. (2023). Exploring the interaction of Outer membrane vesicles (OMVs) produced by *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN with *Arabidopsis thaliana* roots. *Small New World 2.0*, 109-109.

Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата **Софије Б. Нешић** (број индекса Б3013/2018), послата је на софтверску проверу оригиналности дана 12. маја 2026. године. Извештај који садржи резултате провере оригиналности ментор је добио 13. маја 2026. године. На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности, констатујемо да утврђено подудараре текста износи 2%. Увидом у Извештај уочено је подудараре са 43 сумарних извора, од чега је подудараре са свим изворима мања од 1%. Овај степен подударности преваходно је последица навођења научних звања и афилијација чланова комисије, коришћења стручних израза и скраћеница карактеристичних за научну област из које је докторска дисертација, као и препознавања делова реченица за које је очигледно да нису преузети из других извора, што је у складу са чланом 9. Правилника.

Из свега наведеног, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, Извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата **Софије Б. Нешић** под насловом: „Молекуларне основе интеракција корисних ендофитних бактерија са *Arabidopsis thaliana*“.

Мишљење и предлог Комисије

Увидом у докторску дисертацију кандидаткиње Софије Б. Нешић утврђено је да је дисертација реализована у сагласности са планом наведеним у пријави теме. Дисертација је концептирана и израђена у складу са основним принципима научно-истраживачког рада и обухвата све неопходне структурне елементе докторске дисертације. Постављени циљеви истраживања су у потпуности остварени, а добијени резултати су јасно, систематично и прегледно приказани, уз одговарајућу методолошку и статистичку обраду. Приказани резултати су критички размотрени у светлу релевантних литературних података, а закључци су јасно и аргументовано формулисани. Комисија оцењује да дисертација представља значајан и оригиналан научни допринос области молекуларне биологије биљака, фитопатологије и молекуларне микробиологије, области ЕВ и интеракције корисних бактерија са биљкама.

На основу укупне оцене дисертације, увида у истраживачки рад кандидаткиње и сагласно свим претходно изнетим чињеницама у овом Извештају, Комисија предлаже Наставно-научном Већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену докторске дисертације Софије Б. Нешић под насловом: „**Молекуларне основе интеракција корисних ендофитних бактерија са *Arabidopsis thaliana***“ и одобри њену јавну одбрану.

КОМИСИЈА:

У Београду, 15.05.2026. године

др Анета Сабовљевић, редовни професор,
Универзитет у Београду – Биолошки факултет

др Јелена Самарцић, виши научни сарадник,
Универзитет у Београду – Институт за
молекуларну генетику и генетичко инжењерство

др Светлана Соковић Бајић, виши научни сарадник,
Универзитет у Београду – Институт за
молекуларну генетику и генетичко инжењерство