

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На I редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 11.10.2019. године, прихваћен је извештај ментора др Ивана Јарића и др Јасмине Крпо-Ћетковић о урађеној докторској дисертацији Катарине М. Јовичић, истраживача сарадника Института за биолошка истраживања "Синиша Станковић", под насловом "ДИСТРИБУЦИЈА РАЗЛИЧИТИХ ПОЛУТАНАТА У ТКИВИМА ПЕТ КОМЕРЦИЈАЛНИХ ВРСТА РИБА ИЗ ДУНАВА КОД БЕОГРАДА", и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Иван Јарић, научни саветник Биолошког центра Чешке Академије наука, Институт за хидробиологију, Чешке Будејовице, Република Чешка, и Природно-математичког факултета Универзитета Јужне Бохемије, Одељење за биологију екосистема, Чешке Будејовице, Република Чешка, др Јасмина Крпо-Ћетковић, ванредни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Александар Хегедиш, доцент Биолошког факултета Универзитета у Београду и научни саветник Института за мултидисциплинарна истраживања Универзитета у Београду, др Божидар Рашковић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, и др Саша Јанковић, научни сарадник Института за хигијену и технологију меса.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација кандидата Катарине М. Јовичић, под насловом "Дистрибуција различитих полутаната у ткивима пет комерцијалних врста риба из Дунава код Београда", обухвата 118 страна текста. Дисертација садржи 19 табела и 16 слика. На почетку дисертације приложени су, а необухваћени пагинацијом, апстракти на српском и енглеском језику. Пагинирани текст (118 страна) подељен је у осам поглавља: Увод (24 стране), Циљеви истраживања (1 страна), Материјал и методе (16 страна), Резултати (25 страна), Дискусија (18 страна), Закључци (2 стране), Литература (26 страна) и Прилог (6 страна).

Анализа докторске дисертације:

У поглављу "УВОД" кандидаткиња је кроз седам одељака дала преглед литературних података који описују досадашња сазнања релевантна за предмет истраживања своје докторске дисертације. У одељку "Загађење водених екосистема" дат је преглед типова органских и неорганских загађивача као и преглед извора загађења животне средине. У наредном одељку "Неоргански полутанти у воденим екосистемима" дата је елементарна класификација неорганских загађивача на есенцијалне и

неесенцијалне, дефинисан је појам "тешки метали" и дата је дефиниција појмова биоакумулације елемената у ткивима риба, као и биомагнификације елемената дуж трофичких ланаца. Такође, наводи се у ком облику се метали могу наћи у воденој средини и начин њихове акумулације путем шкрга и јетре код риба. У овом делу такође су приказане карактеристике и токсикологија шест елемената за које су дефинисане граничне концентрације у ткивима која се користе за исхрану људи (према законодавству Европске Уније и националном законодавству). У одељку "*Перзистентни органски полутанти*" дате су основне карактеристике ових једињења и наведено је 12 једињења (загађивача) чија употреба је забрањена од 2001. године према Стокхолмској конвенцији о перзистентним органским полутантима. Овај одељак се даље бави проблематиком полихлорованих бифенила (PCB) и пестицида (дихлор-дифенил-трихлоретан (DDT) и продуктима његове деградације – дихлор-дифенил-дихлоретилен (DDE) и дихлор-дифенил-дихлоретан (DDD)). Најпре је дат историјски преглед открића полихлорованих бифенила, њихова хемијска структура као и особине. Наведено је шест индикаторских конгенера (PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-138, PCB-153 и PCB-180) који се користе за карактеризацију контаминације водених екосистема, као и њихови главни извори у воденим екосистемима и начини излагања људи овим једињењима. Овај одељак даље описује откриће и употребу DDT-а, хемијске особине и продукте деградације као и транспорт и начин уласка овог једињења у различите екосистеме.

У следећем поглављу, под називом "*Хистолошке методе за процену загађења акватичне животне средине*" дат је опис метода и основних карактеристика циљних органа за хистопатологију (шкрге, услед директног контакта са воденом средином, и јетра, која има улогу у биотрансформацији ксенобиотика). Поглавље "*Мониторинг акватичних екосистема*" садржи опис пет типова мониторинга животне средине са детаљнијим описом билошког мониторинга. Дат је и осврт на употребу биомаркера који пружају доказе о ефектима загађујућих материја као и њихова подела у две групе (општи (интегративни) и специфични). У наредном поглављу "*Рибе као индикатори загађења акватичних екосистема*" дат је осврт на карактеристике риба које их чине погодним индикаторима загађења акватичних екосистема, као и одлика које индикатори треба да поседују. У одељку "*Биологија и екологија истраживаних врста*" дате су основне информације о биологији и распрострањењу истраживаних врста риба – *Silurus glanis* (сом), *Sander lucioperca* (смућ), *Esox lucius* (штука), *Abramis brama* (деверика), *Blicca bjoerkna* (крупатица).

У поглављу "**ЦИЉЕВИ РАДА**" јасно су дефинисани главни научни циљеви докторске дисертације. Ови циљеви обухватају:

- процену дистрибуције полутаната (токсичних метала, елемената у траговима, полихлорованих бифенила и пестицида) у телу риба и идентификација образаца њихове акумулације у различитим ткивима и органима;
- одређивање концентрације полутаната у ткивима која нису довољно проучавана до сада, како би се идентификовали додатни центри акумулације код риба, а самим тим и идентификовала додатна ткива која могу да се користе као индикатори здравственог стања и квалитета рибљег меса у програмима мониторинга популација риба;

- одређивање концентрације полутаната у различитим сегментима мишића, шкрга, јетре и црева риба како би се утврдио њихов потенцијал коришћења у мониторингу популација риба;
- утврђивање потенцијалне везе између концентрације полутаната у крљуштима и аналном перају са концентрацијама у мишићу у циљу развоја неинвазивних метода мониторинга квалитета рибљег меса;
- однос хистопатолошких промена и загађења у ткивима риба, у циљу утврђивања потенцијала коришћења хистолошких анализа у развоју метода мониторинга популација риба.

У поглављу **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** дат је детаљан преглед подручја истраживања као и основни подаци о сливу Дунава. У табели су приказани физичко-хемијски параметри воде Дунава у периоду узорковања, као и процена квалитета воде на основу тих параметара, а дат је и преглед фауне риба на испитиваном локалитету. Узорци риба сакупљени су на три истраживана локалитета на Дунаву на територији града Београда – Батајница, Београд (Велико ратно острво) и Гроцка, у периоду од новембра 2012. године до марта 2014. године. Узорковано је 13 јединки сома и по 10 јединки штуке, деверике, крупатице и смуђа. Анализирана је концентрација метала и елемената у траговима у 14 ткива сома, као и у мишићу, јетри и шкргама деверике и смуђа, док су код јединки штуке и крупатице одређиване концентрације поменутих елемената још и у крљуштима и аналном перају. У сакупљеном узорку, кожа је одвојена од узорка са мишићем, као и шкржни лук од филамената, јетра је одвојена у два дела (проксимални и дистални), а црево на три региона (проксимални, медијални и дистални). У овом поглављу дат је и детаљан опис примењене методе за анализу концентрације метала и елемената у ткивима испитиваних врста (метода масене спектрометрије са индуктивно спрегнутом плазмом – ICP-MS). За одређивање концентрације органских загађивача (полихлорованих бифенила и пестицида) у филету јединки деверике и смуђа примењена је метода гасне хроматографије са детектором електронског захвата (GC-ECD) и дат је детаљан опис припреме узорака за ову анализу. Хистолошке анализе вршене су на јетри и шкргама јединки деверике и смуђа, тако што су ткива најпре фиксирана у 4% формалину а затим је вршена дехидратација ткива (ткиво спроведено кроз растући градијент етанола и кроз ксилол). Након тога, узорци су калупљени у парафинским калупима и сечени помоћу микротоме, док је за бојење добијених пресека коришћена комбинација хематоксилина и еозина. Хистолошки пресеци су оцењивани полуквантитативном анализом по методи Bernet *et al.* (1999)¹. Овом методом одређени су и хистопатолошки индекси анализираних органа, као и укупни хистопатолошки индекс.

Приликом статистичке анализе података, најпре је тестирана нормалност дистрибуције измерених вредности Kolmogorov-Smirnov тестом и примењени су непараметарски тестови. Поређење концентрације метала и елемената међу 14 различитих ткива јединки сома извршено је применом Kruskal-Wallis *H* теста, након чега су појединачни парови поређени Mann-Whitney *U* тестом (Sokal & Rohlf 1987)². За тестирање присуства повећане акумулације метала и микроелемената код већих јединки, коришћена

¹Bernet, D, Schmidt, H, Meier, W, Burkhardt-Holm P, & Wahli T. (1999). Histopathology in fish: proposal for the protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22, 25-34.

² Sokal, R.R., & Rohlf, F.J. (1987). *Introduction to biostatistics*. New York, USA: Dover Publications.

је Spearman-ова непараметријска корелација. Како би се проценила диференцијација међу рибљим ткивима на основу концентрације елемената примењена је анализа основних компоненти (енгл. principal component analysis – PCA). Укупни ниво концентрација метала у ткивима поређен је коришћењем индекса загађења металима (енгл. metal pollution index – MPI). Поређење концентрација метала и елемената у траговима у кожи и мишићима, шкржном луку и шкржним филаментима, проксималном и дисталном делу јетре, и три сегмента црева (проксимални, средњи и дистални) код 13 јединки сома обављено је употребом Mann-Whitney U теста ($p < 0,05$). Потенцијална веза између концентрације метала и елемената у траговима у мишићу са концентрацијама у крљуштима и аналном перају код пет одабраних врста (штука, деверика, крупатица, сом и смуђ) испитана је методом Spearman-ове непараметријске корелације ($p < 0,01$) (Sokal & Rohlf 1987). Потенцијалне разлике у нивоу хистопатолошких промена концентрација метала и елемената у траговима, као и концентрација полихлорованих бифенила и пестицида у ткивима деверике и смуђа, испитане су применом Mann-Whitney U теста ($p < 0,05$). У овом поглављу приказана је и студија доступне литературе везане за акумулацију елемената у проучаваним ткивима.

У поглављу "РЕЗУЛТАТИ" јасно и прегледно у оквиру шест одељака приказани су добијени резултати. У оквиру одељка "Релативна заступљеност (абунданција) и масени удео врста" показано је да су деверика, крупатица и смуђ врсте које је одликовала висока абунданција и значајан масени удео у укупном улову на истраживаним локалитетима. У наредном одељку, "Анализа концентрације метала и елемената у траговима у ткивима јединки сома", показано је да је максимална акумулација метала и елемената забележена у кичменом пршљену, а релативно висок ниво акумулације уочен је и у јетри и бубрезима. Анализа основних компоненти указала је на добру диференцијацију узорака бубрега, јетре, кичменог пршљена, оперкулума, шкрга и мишића. Максималне вредности индекса загађења металима (MPI) уочене су у кичменом пршљену, затим бубрегу и јетри, док су минималне вредности уочене у жучној кеси, мишићу, мозгу и рибљем мехуру. У одељку "Одређивање концентрације метала и елемената у траговима у различитим сегментима мишића, шкрга, јетре и црева јединки сома" показано је да су се концентрације у мишићу и кожи значајно разликовале за As, Co, Cu, Fe, Hg, Mn и Zn. Шкржни лук и шкржни филаменти разликовали су се у односу на концентрације Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Hg, Mn и Se док се концентрације у два испитивана дела јетре нису статистички разликовале. Дистални сегмент црева разликовао се у концентрацијама елемената од проксималног и медијалног сегмента црева по концентрацијама Co, Mn и Zn. У оквиру одељка "Концентрације полутаната у мишићу, крљуштима и аналном перају иштуке, деверике, крупатице, сома и смуђа", резултати су показали да не постоје значајне корелације између мишића и крљушти у концентрацијама метала и елемената у траговима код свих испитиваних врста (значајне корелације забележене су само код смуђа). Што се тиче корелација између мишића и аналног пераја, резултати су показали да постоји неколико значајних корелација (код јединки иштуке за As и код крупатице за Hg). У следећем одељку, "Одређивање концентрације тешких метала, PCB-а и пестицида и анализа хистопатолошких промена код две врсте риба различитог трофичког нивоа", уочене су значајне разлике у концентрацијама метала и елемената у траговима између шкрга деверике и смуђа (шкрге две испитиване врсте значајно су се разликовале у концентрацијама As, Cd, Cr, Co, Fe, Hg, Mn и Zn, а јетре у концентрацијама As, Cd, Hg и

Zn). Што се тиче хистолошких промена, резултати хистолошке анализе шкрга показују више просечне вредности хистопатолошких скорова код деверике у односу на смуђа (просечне вредности хиперемije, стаза, хиперплазије пехарастих ћелија и присуства еозинофилних гранулоцита). Што се тиче разлика у променама на јетри између две истраживане врсте, констатовано је да су се две промене значајно разликовале - фиброза крвних судова била је већег интензитета код смуђа, док је инфилтрација леукоцита била израженија код деверике. Вредности измерених концентрација РСВ и пестицида код анализираних врста биле су испод вредности МДК прописаних законима ЕУ и Републике Србије, а статистичке анализе су указале на одсуство значајних разлика у концентрацијама РСВ и пестицида између деверике и смуђа. У последњем поглављу, "Анализа екотоксиколошке литературе", претраживањем екотоксиколошке литературе указано је на то да су многа ткива и органи риба слабо проучавани, посебно оперкулум, рибљи мехур, жучна кеса, кичмени пршљен, мозак, желудац и срце. Такође, показало се да постоји недостатак истраживања акумулације елемената у жучи, као и да су у слабо проучаваним ткивима ретко одређиване концентрације As и Se. Анализа доступне литературе указала је на очигледан недостатак стандардизованог приступа узорковању ткива риба као и да аутори ретко обезбеђују информације о процедури узорковања ткива риба.

Поглавље "ДИСКУСИЈА" прати начин приказа резултата и подељено је на пет целина. Резултати истраживања објашњени су и сагледани у светлу релевантних литературних података и поређени са резултатима других истраживања из дате области. Прво је детаљно дискутовано о забележеним разликама у нивоима акумулације метала и елемената у траговима у различитим органима риба, а у вези са разликама у физиолошким функцијама сваког органа у телу рибе. Затим је очигледан недостатак стандардизованог приступа узорковању ткива риба поткрепљен релевантним литературним подацима. Дискусија је даље текла у правцу разматрања могућности коришћења крљушти и аналног пераја као мање инвазивне методе за праћење акумулације метала и елемената у траговима. Детаљном анализом доступних литературних података уочено је да су досадашње студије претежно биле фокусиране на анализу концентрације живе у месу, за коју је прописана МДК услед њеног негативног ефекта по људско здравље. У даљем тексту упоређивани су добијени резултати са доступним литературним подацима везаним за акумулацију органских загађивача код предаторских и непредаторских врста риба. Дискутовало се и о забележеним хистопатолошким променама које су посматране у светлу ћелијског одговора, тј. хистолошког одговора на евентуално присуство ксенобиотика пореклом из животне средине.

У поглављу "ЗАКЉУЧЦИ" јасно су сумирани следећи закључци истраживања: на основу процене абунданције и масеног удела врста на истраживаним локалитетима, као и биолошких и еколошких карактеристика врста, као оптималне индикаторске врсте квалитета воде и рибљег меса у Дунаву на подручју Београда издвојиле су се деверика, крупатица и смуђ, а у нешто мањој мери и сом. Наведене врсте карактерисала је доступност у свим сезонама, лакоћа идентификације, као и значај за комерцијални и рекреативни риболов. Поред наведеног, одабране врсте обухватају основне трофичке нивое у заједници. У оквиру истраживања уочен је висок ниво диференцијалне акумулације елемената међу анализираним ткивима у сому из Дунава. Највиши свеукупни

ниво акумулације уочен је у кичменом пршљену, бубрезима и јетри, док су минималне вредности уочене у жучној кеси, мишићу, мозгу и рибљем мехуру. Концентрације As, Cd, Pb, Cu, Fe, и Zn у мишићу биле су испод МДК прописаних законодавством Европске Уније и Републике Србије. Ниво акумулације у мишићу указује да се, према националним и европским стандардима, месо сома може користити у људској исхрани. Од изузетног је значаја обезбедити детаљне податке о процедури узорковања рибљих ткива. Наиме, концентрације метала и елемената у мишићу варирају у зависности од тога да ли је у узорак при анализи укључена и кожа. Слично је и са шкргама и шкржним луком и различитим деловима дигестивног система, али не и са ткивом јетре. Стога је препорука да се кожа и шкржни лук не користе при анализи мишића и шкрга, као и да је неопходно нагласити који се део дигестивног тракта користи при анализи. Анализа акумулације елемената у крљуштима и аналном перају не представља задовољавајућу методу за процену контаминације мишића овим елементима, али се може користити као метода раног упозорења за процену контаминације ткива појединим елементима. Већи степен патолошких промена на шкргама узрокован је сталним контактом са супстанцама које се налазе у води која их окружује, па шкрге стога представљају релевантне индикаторе изложености риба загађивачима у води. Деверика, као бентосна риба, у директном је контакту са седиментом и не предузима велике миграције, због чега представља добру индикаторску врсту за мониторинг загађења слатководних екосистема. Промене на ткивима су неспецифичне и не могу указати на полутант који изазива одређену промену, па је приликом праћења стања у животној средини неопходно поред ове методе применити и друге методе мониторинга. Концентрације органохлорних загађивача биле су ниске и испод максимално дозвољених концентрација, али треба имати у виду да су акватични организми изложени комплексној мешавини хемијских загађивача која може проузроковати синергистичке кумулативне токсичне ефекте.

Поглавље "ЛИТЕРАТУРА" садржи 276 библиографских јединица које су једнообразно приказане и адекватно цитиране у тексту дисертације.

У поглављу "ПРИЛОГ" дат је табеларни преглед концентрација метала и елемената пријављених од стране других аутора као и списак 23 библиографске јединице које су цитиране у поменутих табелама.

3. БИБЛИОГРАФИЈА

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Радови у часописима међународног значаја

1. Jovičić, K., Nikolić, D. M., Višnjić-Jeftić, Ž., Đikanović, V., Skorić, S., Stefanović, M21 S. M., Lenhardt, M., Hegediš, A., Krpo-Četković, J., & Jarić I. (2015). Mapping differential elemental accumulation in fish tissues: assessment of metal and trace element concentrations in wels catfish (*Silurus glanis*) from the Danube River by ICP-MS. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(5), 3820-3827. doi: 10.1007/s11356-014-3636-7
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-014-3636-7>

2. Jovičić, K., Lenhardt, M., & Jarić, I. (2015). Importance of standardized reporting of elemental concentrations in fish tissues. *Human and Ecological Risk Assessment*, 21(8), 2170-2173. doi:10.1080/10807039.2015.1032885 M23
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10807039.2015.1032885>
3. Jovičić, K., Janković, S., Višnjić-Jeftić, Ž., Skorić, S., Đikanović, V., Lenhardt, M., Hegediš, A., Krpo-Ćetković, J., & Jarić, I. (2016). Mapping differential elemental accumulation in fish tissues: Importance of fish tissue sampling standardization. *Archives of Biological Sciences*, 68(2), 303-309. doi:10.2298/ABS150629019J M23
http://www.serbiosoc.org.rs/arch/index.php/abs/article/view/771/pdf_ABS-68-2-303

Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата **Катарине М. Јовичић** (Б3052/2012) послата је дана 23.09.2019. на софтверску проверу оригиналности. Извештај који садржи резултате провере оригиналности ментори су добили истог дана, 23.09.2019.

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 докторске дисертације "Дистрибуција различитих полутаната у ткивима пет комерцијалних врста риба из Дунава код Београда", аутора Катарине М. Јовичић, констатовано је да утврђено подударане текста износи 10%. Овај степен подударности последица је општих фраза и појмова, стандардних назива и скраћеница хемијских елемената и једињења, цитата, личних имена и назива институција, као и претходно публикованих резултата докторандових истраживања који су проистекли из дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника.

Када се све изнето узме у обзир, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата **Катарине М. Јовичић** под насловом "Дистрибуција различитих полутаната у ткивима пет комерцијалних врста риба из Дунава код Београда", те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Мишљење и предлог Комисије:

На основу свега изнетог, Комисија сматра да докторска дисертација кандидата Катарине М. Јовичић, под насловом "ДИСТРИБУЦИЈА РАЗЛИЧИТИХ ПОЛУТАНАТА У ТКИВИМА ПЕТ КОМЕРЦИЈАЛНИХ ВРСТА РИБА ИЗ ДУНАВА КОД БЕОГРАДА" представља оригинални допринос истраживању екотоксикологије и хистопатологије риба.

Током израде дисертације, кандидаткиња је показала задовољавајући степен познавања научне основе проблематике, добро поставила циљеве истраживања и применила адекватне и савремене методе истраживања и обраде добијених резултата, које је критички дискутовала уз одговарајуће литературне податке.

Са практичног становишта, резултати ове дисертације значајно доприносе познавању биоакумулације и дистрибуције полутаната (токсичних метала, елемената у

траговима, полихлорованих бифенила и пестицида) у ткивима риба, и указују на значај коришћења ових анализа у мониторингу популација риба.

На основу свега наведеног, Комисија предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати извештај и одобри Катарини М. Јовичић јавну одбрану докторске дисертације под насловом "ДИСТРИБУЦИЈА РАЗЛИЧИТИХ ПОЛУТАНАТА У ТКВИМА ПЕТ КОМЕРЦИЈАЛНИХ ВРСТА РИБА ИЗ ДУНАВА КОД БЕОГРАДА".

КОМИСИЈА:

др Иван Јарић научни саветник Биолошког центра Чешке Академије Наука, Институт за хидробиологију, Чешке Будејовице, Република Чешка, и Природно-математичког факултета Универзитета Јужне Бохемије, Одељење за биологију екосистема, Чешке Будејовице, Република Чешка

др Јасмина Крпо-Ћетковић, ванредни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду

др Александар Хегедиш, доцент Биолошког факултета и научни саветник Института за мултидисциплинарна истраживања Универзитета у Београду

др Божидар Рашковић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду

др Саша Јанковић, научни сарадник Института за хигијену и технологију меса

У Београду, 14.10.2019. године.