

## НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На V редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 13.03.2020. године, на основу молбе ментора, др Вере Николић, ванредног професора Универзитета у Београду - Биолошког факултета и др Момира Пауновића, научног саветника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Стефана П. Анђуса, истраживача сарадника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ под насловом: **„Слатководни сунђери (Porifera, Spongillidae) западног Балкана и Панонске низије: морфолошко генетичка студија“**, у саставу:

1. др Момир Пауновић, научни саветник, Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, ментор;
2. др Вера Николић, ванредни професор, Универзитет у Београду – Биолошки факултет, ментор;
3. др Бојана Тубић, научни сарадник, Универзитет у Београду, Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, члан.

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

### ИЗВЕШТАЈ

#### Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација Стефана П. Анђуса под насловом: „Слатководни сунђери (Porifera, Spongillidae) западног Балкана и Панонске низије: морфолошко генетичка студија“ написана је на 91 страници и садржи 43 слике (3 у поглављу Увод, 3 у поглављу

Материјал и методе и 37 у поглављу Резултати) и 13 табела (4 у поглављу Материјал и методе и 9 у поглављу Резултати). Текст докторске дисертације је подељен на осам поглавља: 1. Увод (13 страна), 2. Циљеви истраживања (2 стране), 3. Материјал и методе (12 страна), 4. Резултати (42 стране), 5. Дискусија (11 страна), 6. Закључци (2 страна), 7. Литература (9 страна). Поглавље литература садржи 142 библиографске јединице. Поред наведеног, дисертација садржи насловну страну на српском и енглеском језику, податке о менторима и члану комисије, Изјаве захвалности, Сажетак на српском и енглеском језику, Садржај, Биографију, Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјаву о коришћењу.

### **Анализа докторске дисертације**

Поглавље Увод докторске дисертације садржи 5 потпоглавља која на јасан и систематичан начин дају преглед досадашњих сазнања и истраживања слатководних сунђера, као и основне елементе њихове анатомије и морфологије. Након кратког подсећања на основне одлике ове групе, кандидат у потпоглављу **Историјат** даје значајане податке везане за допринос истраживању слатководних сунђера које је дао Едвард Потс, који је 1887. године написао детаљну монографију под насловом „Contributions towards a Synopsis of Fresh-Water Sponges with Descriptions of Those Named by Other Authors from all Parts of the World“ и који је, између осталог заслужан и за термин „гемула“ који означава пропагулу, односно дормантно тело, које је до тада називано статобластом. У потпоглављу **Грађа сунђера** концизно су дате основне информације везане за морфологију групе, а у потпоглављу **Морфологија скелетних елемената сунђера и њихова класификација** наводи се, између осталог, да Постоји и трећа класа спикула које улазе у грађу гемула које с обзиром на своју велику морфолошку разноврсност, представљају најважнији елемент за идентификацију и разликовање врста. Даље, у потпоглављу које следи, под насловом **Систематика**, изнети су најновији подаци о истраживаној групи, и дата је макрокласификација сунђера генерално, наравно, са посебним и детаљним освртом на слатководне сунђере чија је анатомија, морфологија, дистрибуција, генетика и филогенија у фокусу ове дисертације. У последњем потпоглављу **Слатководни сунђери** наводи се да је до сада откривено 217 слатководних врста,

распоређених у 45 родова и 6 фамилија: Lubomirskiidae, Malawispongiidae, Metaniidae, Metschnikowiidae, Potamolepidae i Spongillidae. Све оне припадају реду Spongillida Manconi & Pronzato, 2002, класи Demospongiae Sollas, 1885. Највећи диверзитет забележен је у неотропском региону, а затим у Палеарктику. Такође, у овом потпоглављу су изнете најважније информације о свим фамилијама слатководних сунђера, њиховој дистрибуцији и репродукцији.

У оквиру поглавља **Циљеви истраживања** укратко су представљени главни циљеви докторске дисертације, а то су: утврђивање присутних врста сунђера у Дунаву и Сави, њиховим главним притокама у Србији, у језерима Србије и у језерима и рекама Црне Горе и Северне Македоније на основу анализе спикула применом светлосне микроскопије; анализе спикула скенирајућом електронском микроскопијом (SEM); анализе секвенце 3D домена 28S рибозомске ДНК; утврђивање распрострањености Porifera у водним телима испитиваног подручја; корелисање распрострањености сунђера са физичким и хемијским параметрима спољашње средине, односно воде (температура, рН, концентрација кисеоника, електрична проводљивост, присуство органских и неорганских једињења) и корелисање распрострањености и појаве аномалија у грађи спикула са присуством тешких метала.

Поглавље **Материјал и методе** садржи укупно 9 потпоглавља. У првом, под насловом Област узорковања представљене су фазе узорковања и одабрани локалитети, у потпоглављу Прикупљање биолошког материјала истакнуто је да је на свим поменутих рекама и језерима укупно прегледан 171 локалитет, од тога је на 46 установљено присуство сунђера. Сакупљено је 168 примерака сунђера и извршена је и процена абунданце према модификованој методи Droschner-a. Потпоглавље Прикупљање физичко-хемијских параметара садржи информације о физичко-хемијским параметрима који су на основу литературних података узети као релевантни за живот сунђера и који су ушли у статистичку анализу и то: температура воде, рН, електропроводљивост, суспендоване материје, растворени кисеоник, zasiћење кисеоником, укупна тврдоћа воде, растворени угљен диоксид, бикарбонати, укупне растворене соли, силикати, и калцијум. У обзир су узете просечне вредности параметара на нивоу целог тока реке, за период од шест месеци (јуни-новембар) који одговара периоду узорковања. Даље следи потпоглавље Препарација спикула за светлосну и електронску микроскопију у којем је детаљно описан

протокол за препарацију спикула сунђера, као и детаљније појашњење везано за утврђивање аномалија спикула и корелисање са квалитетом воде. Потпоглавље **Изолација ДНК** сарджи протоколе за екстракцију ДНК, затим следи потпоглавље **Одређивање концентрације ДНК у узорку** где се наводи на који начин се на спектрофотометру одређује концентрација ДНК у испитиваном узорку. Следи потпоглавље **Амплификација ДНК** где су приказани рецепти за реакциону смешу, као и температурни профили реакције и прајмери коришћени у овим анализама. У наредном потпоглављу под називом **Полиакриламидна гел електорфореза (PAGE)** објашњени су разлози коришћења ове методе, као и састав полиакриламидног гела. У потпоглављима која следе, **Секвенцирање**, **Пречишћавање PCR продукта**, **Директно секвенцирање**, **Пречишћавање продукта директног секвенцирања** приказане су технике молекуларне систематике које су коришћене у овој дисертацији. Потпоглавље **Капиларна гел електрофореза** објашњава предности ове методе у односу на друге методе које се користе у ову сврху, а потпоглавље **Конструкција филогенетског стабла** даје информације о томе да је анализа је обухватила 57 нуклеотидних секвенци од укупно 340 базних парова. За израчунавање еволутивних дистанци коришћен је Kimura двопараметарски метод, а дистанце су изражене у броју базних супституција по локусу.

Последње потпоглавље у оквиру **Материјала и метода** носи назив **Статистичка анализа** и у њему су представљене дескриптивне и аналитичке методе коришћене у анализи резултата ове докторске дисертације.

Поглавље **Резултати** је подељено на седам потпоглавља. Резултати су приказани јасно, уз прегледне табеле и илустрације, и детаљно су објашњени. Прво потпоглавље, **Подручје истраживања** бави се приказом испитиваних локалитета и ту су дате детаљне мапе са налазима сунђера, као и пројекти у оквиру којих су узорковања вршена. У другом потпоглављу, **Диверзитет сунђера испитиваног подручја**, акценат је на морфолошкој идентификацији сунђера заснованој на присуству специфичних категорија спикула (мегасклера, микросклера, гемулосклера) анализираних светлосном и електронском микроскопијом, као и генетичкој анализи која подразумева секвенцирање 28S ДНК. Овим методама показано је присуство пет различитих врста сунђера на подручју обухваћеним истраживањем. У овом потпоглављу детаљно су приказани морфологија и екологија поменутих врста. У наредном потпоглављу, **Музејски примерци из Северне**

**Македоније**, описане су врсте, међу којима и ендемске, идентификоване у узорцима који су уступљени из збирке Природњачког музеја у Скопљу. **Дистрибуција Porifera у испитиваним водним телима** је наредно поглавље у којем је представљена абунданца сунђера у испитиваним водним телима, као и њихов укупни удео у односу на остале таксоне. Потпоглавље **Дистрибуција Porifera у односу на физичко-хемијске карактеристике водних тела** објашњава корелацију присуства сунђера у одређеном водном телу и физичко-хемијских параметара воде. Представљене су корелације посебно у Дунаву и Сави и посебно у њиховим притокама. Наредно поглавље је **Дистрибуција Porifera у односу на присуство загађивача** у коме је, између осталог дата веома интересантна анализа морфолошких аномалија спикула где су све оне детаљно описане и документоване. За сада се не може утврдити узрок њиховог настанка. Последње потпоглавље носи назив **Обједињена генетичка и филогенетска анализа** и у њему је табеларно приказан списак свих секвенцираних сунђера по месту налажења. Осим за идентификацију врста сунђера, добијене секвенце искоришћене су и за филогенетску анализу, која је обављена на седам хаплотипова. Укупно је секвенцирано 53 узорка и добијена је значајна подударност између два приступа у детерминацији врста (морфолошке и генетичке). Посебно би требало напоменути да се у склопу анализе појединачних врста, без обзира на ограничења генетичке анализе, дошло и до значајних резултата. Треба истаћи да је први пут парцијална 28S секвенца употребљена у идентификацији врсте *T. horrida*. Такође, откривена су и два нова хаплотипа *E. fluviatilis*, као и нови хаплотип врсте *E. fragilis*. Филогенетско стабло хаплотипова слатководних сунђера конструисано на основу парцијалне секвенце D3 домена 28S рДНК.

Поглавље **Дискусија** је подељено на четири потпоглавља. Кандидат је добијене резултате критички разматрао и упоређивао са досадашњим истраживањима. Као један од кључних налаза ове студије кандидат истиче да је узорковање сунђера дуж Дунава (од Немачке до Румуније), Саве (од Словеније до Србије), већине њихових притока, као и у језерима Западног Балкана и Панонске низије, показало ниску заступљеност популација сунђера, малу густину, мали број врста по локалитету, и у већини случајева малу биомасу. Забележена је велика разноврсност облика и боја сунђера, чије варијације нису биле у корелацији са врстама, већ су зависиле од фактора животне средине.

Од укупно шест врста регистрованих у Централној Европи, у подручју обухваћеним овом студијом забележено је пет врста: *E. fluviatilis*, *S. Lacustris*, *E. muelleri*, *E. fragilis* и *T. horrida*.

У дискусији се наводи и да је урађена је морфолошка анализа ограниченог броја ендемских сунђера пореклом из великих језера Северне Македоније: Дојранског, Преспанског и Охридског.

Без обзира на занемарљиве разлике у вредностима различитих параметара забележених у нашиј студији, може се закључити да су сунђери генерално показивали афинитет према благо алкалној и добро оксигенисаној води, као и афинитет према вишим температурама и проводљивошћу, средњом количином суспендованих честица, и нешто вишом количином калцијума и  $\text{CO}_2$ .

Аутор у дискусији наводи и то да су сунђери нађени и у рекама са релативно високим нивоом загађења, те се може претпоставити да присуство загађивача има последице на биологију сунђера, између осталог, да узрокује малформације спикула.

Молекуларне методе у овом раду су омогућиле проверу налаза добијених морфолошким анализама, односно повећале су поузданост идентификације и тако омогућиле потврду одређене врсте.

У поглављу **Закључци** сумирани су најзначајнији резултати докторске дисертације који су јасно и таксативно наведени. Између осталог, истиче се да су слатководни сунђери слабо истражена група, и због тога овај рад представља значајан допринос познавању ове групе организама. Диверзитет сунђера је био очекиван за овај део европског континента, с обзиром да је пронађено пет од до сада описаних шест врста које насељавају Централну Европу. Пет пронађених врста, по опадајућој заступљености, су следеће: *E. fluviatilis*, *S. lacustris*, *E. muelleri*, *T. horrida* и *E. fragilis*. Водна тела Западног Балкана и Панонске низије карактерише ниска учесталост налаза - сунђери су нађени на свега једној четвртини испитаних локалитета. Абунданца им је у испитаном региону такође била ниска. Ниска учесталост и мала густина популација сунђера на испитиваном подручју одраз су карактеристика врста и услова станишта. На дистрибуцију слатководних сунђера утичу следећи параметри: растворени кисеоник, тврдоћа воде, бикарбонати, електрична проводљивост, укупне растворене соли, калцијум и силикати. С обзиром на сесилан начин живота, широко географско распрострањење забележених

врста, као и чињеницу да могу опстати у водама различитог степена загађења и у разноврсним стаништима, представници групе Porifera могли би представљати корисне биоиндикаторе квалитета воде и неопходна су додатна испитивања у овом правцу.

У поглављу **Литература**, наведено је 142 библиографске јединице које представљају најважније изворе који су од значаја за тему докторске дисертације.

## **Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације**

### **Б1. Радови у часописима међународног значаја**

1. **Andjus, S.**, Nikolic, N., Dobricic, V., Marjanovic, A., Gacic, Z., Brankovic, G., Rakovic, M. and Paunovic, M. (2018). Contribution to the knowledge on the distribution of freshwater sponges – the Danube and Sava rivers case study. *Journal of Limnology*. 77, 2, 199-208 (IF 2018 **1,606**) (M22)  
<https://www.jlimnol.it/index.php/jlimnol/article/view/jlimnol.2017.1677>
2. **Andjus, S.**, Nikolic, N., Marjanovic, A., Brankovic, M., Lazovic, V., Tubić, B., Atlagić, J.Č., Nikolić, V. and Paunović, M., (2019). First record of freshwater sponge *Trochospongilla horrida* Weltner, 1893 in Serbia – A morphological and genetic study. *Limnologica*, 76, 48-51 (IF 2018 **2,051**) (M22)  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0075951118302299>
3. **Andjus, S.**, Lazović, V., Nikolić, N., Tubić, B., Nikolić, V. and Paunović, M., (2019). Distribution of freshwater sponges in Serbia. *Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie*. DOI: <https://doi.org/10.1127/fal/2019/1242> (IF 2017 **1,361**) (M22)  
[https://www.ingentaconnect.com/content/schweiz/fal/pre-prints/content-fal\\_000\\_0\\_0000\\_0000\\_andjus\\_1242\\_prepub](https://www.ingentaconnect.com/content/schweiz/fal/pre-prints/content-fal_000_0_0000_0000_andjus_1242_prepub)

### **Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја (M34)**

1. **Andjus S.**, Nikolic N., Čanak Atlagić J., Đuknić J., Kračun-Kolarević M., Tubić B. What Causes Malformations in Freshwater Sponge Spicules? - Preliminary Research in Serbian Rivers. 3d Central European Symposium for Aquatic Macroinvertebrate Research. July 8–13 2018, Lodz, Poland. Book of abstracts, p. 84.
2. **Andjus S.**, Nikolić N., Dobričić V., Marjanović A., Raković M., Paunović M. (2017). Freshwater sponges in Danube and Sava Rivers – molecular and morphological identification. [Poster Session]. In: Brajušković G., Đorđević, editors. Book of abstracts of the 1st Congress of Molecular Biologists of Serbia (CoMBoS); 2017 September 20-22; Belgrade, Serbia, p. 23.

Б3. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја (М64)

1. **Stefan Andjus**, Bojana Tubić, Jelena Čanak Atlagić, Tomović Jelena, Vasiljević Božica, Raković Maja, Momir Paunović. Prvi nalaz slatkovodnog sunđera *Trochospongilla horrida* Weltner, 1893 u Srbiji [abstract]. U: Živić M., Petković B., urednici. Knjiga sažetaka "Drugi kongres biologa Srbije"; 2018 Septembar 25-30; Kladovo, Srbija. Izdavač: Beograd (Srbija): Srpsko biološko društvo; p. 312. isbn: 978-86-81413-08-1.

Б3. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја (М63)

1. **Andus, S.**, Čanak Atlagić, J., Marković, V., Kračun, M., Tomović, J., Paunović, M. (2014). Slatkovodni sunđeri – istraživanje i obrada materijala., "Voda 2014", p.135-140. 43rd Annual Conference of the Serbian Water Pollution Control Society, Tara

### Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата **Стефана Анђуса Б3055/2014** послата је дана **26.02.2020.** године на софтверску проверу оригиналности. Извештај који садржи резултате провере оригиналности ментор је добио дана **27.02.2020.** и констатовано је подударање текста од **8%**. Утврђено подударање текста је последица неопходности коришћења конвенцијом утврђене номенклатуре молекуларно-генетичких појмова, затим навода и описа стандардних метода коришћених током аналитичког дела рада на дисертацији и референцирања, затим чињенице да су резултати публиковани у неколико радова чиме је дисертација верификована. Осим тога, подударање је последица и коришћења географских појмова којима су одређена подручја из којих потичу узорци слатководних сунђера чији је диверзитет истраживан у овој докторској дисертацији. Када се све изнето узме у обзир, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата Стефана Анђуса, под насловом **"Слатководни сунђери (Porifera, Spongillidae) западног Балкана и Панонске низије: морфолошко-генетичка студија"**, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

### Мишљење и предлог Комисије

На основу свега изнетог, Комисија сматра да је докторска дисертација кандидата **Стефана Анђуса** под насловом **"Слатководни сунђери (Porifera, Spongillidae) западног Балкана и Панонске низије: морфолошко-генетичка студија"** у потпуности урађена и написана у сагласности са предложеним програмом у одобреној пријави. Такође, ова



докторска дисертација представља значајан допринос познавању слатководних сунђера не само на испитиваном подручју, него има и далеко шири значај. Колико су ова истраживања квалитетна говоре и публикације које су директно произашле из рада кандидата на овој дисертацији, и Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета да прихвати овај извештај и одобри њену јавну одбрану.

**КОМИСИЈА:**

У Београду, 13.03.2020. године

---

др Момир Пауновић, научни саветник,  
Универзитет у Београду Институт за биолошка истраживања „Синиша  
Станковић“ – Институт од националног значаја за Републику Србију

---

др Вера Николић, ванредни професор,  
Универзитет у Београду, Биолошки факултет

---

др Бојана Тубић, научни сарадник,  
Универзитет у Београду, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“  
– Институт од националног значаја за Републику Србију