

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Кандидата **Дијане Пантелић**

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
1. Датум и орган који је именовao комисију 13.07.2017. године, Наставно-научно веће Природно-математичког факултета, Универзитета у Новом Саду
2. Састав комисије са знаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен: 1. Др Јелица Б. Симеуновић , ванредни професор, ужа научна област Микробиологија, датум избора 26.03.2015., Природно-математички факултет, Нови Сад, председник 2. Др Зорица Б. Свирчев , редовни професор, ужа научна област Хидробиологија, датум избора 01.01.2005., Природно-математички факултет, Нови Сад, ментор 3. Академик Др Слободан Б. Марковић , редовни професор, ужа научна област Квартарна геологија, Климатологија, датум избора 01.01.2009., Природно-математички факултет, Нови Сад, и члан Српске академије наука и уметности, датум избора 07.11.2015., члан 4. Др Снежана Б. Симић , ванредни професор, ужа научна област Екологија, биогеографија и заштита животне средине, датум избора 12.09.2012., Природно-математички факултет, Крагујевац, члан
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
1. Име, име једног родитеља, презиме: Дијана, Младен, Пантелић
2. Датум рођења, општина, држава: 19.03.1984., Зрењанин, Србија
3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија–мастер и стечени стручни назив Природно-математички факултет, Дипломирани биолог-мастер (Микробиологија), Дипломирани биолог-мастер
4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2010. година, Доктор наука - биолошке науке
5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: -
6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: -
III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ: „Потенцијал секундарних метаболита цијанобактерија као биомаркера у палеоклиматској реконструкцији“

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са знаком броја страна, поглавља, слика, шема, графика и сл.

Наше сазнање о еволуцији живота на Земљи засновано је на фосилним записима. Биомаркери (молекуларни фосили) су специфичне органске компоненте отпорне на деградацију, пронађене у седиментима, које могу објаснити биолошко порекло органске материје и могу се користити за реконструкцију палеоклиматских и палеоеколошких услова у прошлости. Палеоклиматска реконструкција је научна дисциплина која комбинује аналитичке методе из неколико различитих поља у сврху истраживања климатских услова који су владали у прошлости. Највећи број примера о палеоклиматској реконструкцији је везан за језерске/маринске седimente. Најзначајнији терестрични ресурси за палеоклиматску реконструкцију на нашој планети су лесни региони. Лес представља један од најраспрострањенијих континенталних седиментних формација који покрива око 10% Земљине површине. Поређењем са биомаркерима пореклом из језерских/маринских седимената, показатељи палеоклиме пореклом из леса су потенцијално још директнији начин израде палеоклиматске реконструкције, јер је лес у директном контакту са атмосферским и климатским условима у периоду његовог формирања. Добро развијене лесне секвенце одражавају промене у акумулацији лесних седимената и стога се користе као мерило за одређивање геолошке прошлости, што је важан параметар при климатском моделовању. Сваки слој носи са собом информације о владајућим климатским условима које правилном анализом и тумачењем пружају могућност расветљења климатских услова сваког специфичног слоја односно временског периода током којег је акумулиран дати слој. Стварање наслага леса представља сложени процес, у ком најважнију улогу имају биолошке лесне покорнице, чији су најзаступљенији чланови цијанобактерије (BLOCDUST model) које остављају иза себе продукте метаболизма. Уколико су ова једињења специфична за цијанобактерије и хемијски стабилна, тако да остају непромењена у природи или се у дужем временском периоду измене у предвидљиве облике, можемо их сматрати биомаркерима са апликативним значајем у реконструкцији палеоклиматских услова. Секундарни метаболити цијанобактерија заслужни за њихов опстанак су пигменти (нпр. фикобилини, сцитонемин и микоспорину сличне аминокиселине) и цијанотоксини (нпр. микроцистини, цилиндроспермопсини, сакситоксин). Уобичајна метода анализе пигментног састава је спектрофотометријска анализа, која је коришћена у великом броју студија у којима је потврђено присуство сцитонемина и микоспорину сличних аминокиселина. С обзиром на проблем набавке стандарда сцитонемина и микоспорину сличних аминокиселина на тржишту, веома је тешко HPLC или LC-MS(/MS) методама потврдити у великом броју узорака да су екстраховани метаболити управо сцитонемин и микоспорину сличне аминокиселине. Из тог разлога су у докторској дисертацији уведене нове скраћенице: **МОСА** - метаболити у опсегу сцитонемин апсорбанце и **МОМА** - метаболити у опсегу микоспорин апсорбанце. Процедура припреме узорака, екстракција и квантификација МОСА и МОМА је рађена спектрофотометријом по поступцима претходно утврђеним за сцитонемин, односно микоспорину сличне аминокиселине. Потенцијал МОСА и МОМА као биомаркера у палеоклиматској реконструкцији се сматра једнако корисним као и потенцијал сцитонемина и микоспорину сличних аминокиселина, будући да им је продукција у великој зависности од фактора спољашње средине и да им је структура стабилна. И поред тога, квалитативном анализом МОСА, екстрахованог из 34 водених и терестричних цијанобактерија, коришћењем LC-MS(/MS) методе је детектовано присуство сцитонемина у 10 узорака, чиме је недвосмислено доказано присуство сцитонемина. Одабрани цијанобактеријски сојеви представљају добру основу за преглед појаве и продукције пигмената, јер потичу из различитих водених и терестричних средина. У дисертацији је анализом продукције МОСА и МОМА спектрофотометријом констатовано присуство МОСА код 27 водених и терестричних цијанобактерија, односно присуство МОМА код 32 анализираних културе, од укупно 34 анализираних. У циљу утврђивања потенцијала пигмената као биомаркера у палеоклиматској реконструкцији посматрана је њихова стабилност деловањем абиотичких (различитих рН и температурних вредности подлоге, различитог времена излагања УВ светлости) и биотичких фактора (три различита бактеријска соја изолована из биолошких лесних покорница) и утврђена је изражена стабилност МОСА и МОМА. Фикобилини су уочени код свих тестираних лесних цијанобактерија, међутим са становишта потраге за поузданим биомаркерима у геолошким истраживањима показали су се неодговарајућим услед деградације у контролним условима и након деловања бактерија током временског периода посматрања. У анализи пигмената цијанобактерија као биомаркера у палеоклиматској реконструкцији послужио је АММИ модел (eng. *Additive main effect and multiplicative interaction*, Главни адитивни ефекти и мултипликативна интеракција), који

пружа значајан допринос одабиру одговарајућих биомаркера у палеоклиматској реконструкцији. Докторском дисертацијом обухваћена су и истраживања цијанотоксина, међутим методама коришћеним у докторској дисертацији за утврђивање токсичности (*Artemia salina* биоесеј) и способности продукције микроцистина, цилиндроспермопсина и сакситоксина (ELISA тест, LC-MS(/MS) и HPLC методе) лесних цијанобактерија добијени су негативни резултати. Спроведен је и тест биодеградабилности микроцистина изолованог из референтног соја *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 који је показао изразиту стабилност током анализираниог временског периода. Постављање BLOCDUST хипотезе и откриће стабилности МОСА и МОМА, а тиме и њихове могуће употребе као поузданих биомаркера у палеоклиматској реконструкцији представља основу за многа будућа истраживања. Предложени сценарио се може сматрати иновативним у палеоклиматској реконструкцији, а развој нових, квалитативних палеоклиматских показатеља може иницирати нову еру лесних истраживања у наредној деценији.

Докторска дисертација „Потенцијал секундарних метаболита цијанобактерија као биомаркера у палеоклиматској реконструкцији“ кандидата Дијане Пантелић је написана на 206 страна (односно 229 страна: 16 страна испред главних поглавља, које обухватају Насловну страну, Захвалницу, Кратак садржај, Проширени садржај, Листу илустрација и графикона у тексту, Листу табела у тексту, Листу скраћеница, Предговор; и 7 страна иза главних поглавља, које обухватају Биографију кандидата и Кључне документацијске информације на српском и енглеском језику). Докторска дисертација садржи: 7 поглавља, 6 табела, 61 графикон, 15 слика, 1 шему и 652 литературних навода. Докторска дисертација је написана на српском језику, латиничним писмом. Текст докторске дисертације је подељен на 7 поглавља:

- 1) Увод (1-30 стр.);
- 2) Циљеви истраживања (31-32 стр.);
- 3) Материјал и методе (33-68 стр.);
- 4) Резултати (69-123 стр.);
- 5) Дискусија (124-159 стр.);
- 6) Закључци (160-163 стр.);
- 7) Литература (164-206 стр.).

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

САДРЖАЈ - Садржај даје преглед основних целина дисертације (поглавља и потпоглавља) ради брзе претраге докторске дисертације и јасног прегледа свих делова тезе. Такође је дат преглед **ЛИСТЕ ИЛУСТРАЦИЈА И ГРАФИКОНА У ТЕКСТУ, ЛИСТЕ ТАБЕЛА У ТЕКСТУ** и **ЛИСТЕ СКРАЋЕНИЦА**. Овако организован приказ омогућава јасан и следив преглед свих битних поглавља дисертације и лакшу претрагу илустрација, графикона и табела.

Комисија оцењује да су делови садржаја и одговарајућа претпоглавља сврсисходна и приказана прегледно и јасно.

УВОД - У уводном делу јасно су дата уводна разматрања, описани су општи проблеми области из које је дисертација и предмет истраживања уз навођење кључних аспеката који ће се разматрати у дисертацији. Дат је детаљан преглед литературе о досадашњим сазнањима о секундарним метаболитима цијанобактерија с посебним освртом на пигменте - фикобилине, сцитонемин и микоспорину сличне аминокиселине, и цијанотоксине - микроцистине, цилиндроспермопсин и сакситоксине. Уведено је објашњење BLOCDUST модела, као основе у предлагању потенцијалне употребе секундарних метаболита цијанобактерија у палеоклими. Указано је на основне постулате и недостатке традиционално коришћених метода првенствено у палеоклиматској реконструкцији леса и дат је предлог решења.

Поглавље је написано систематично, јасно и са великим бројем информација које обухватају све неопходне аспекте за истраживања спроведена у дисертацији. На тај начин кандидаткиња показује познавање поља истраживања и јасно дефинише проблеме и тематику којом се дисертација бави. Текст у уводу и расподела потпоглавља представљени су логичким и смисленим редом, где се на крају уводног дела дефинишу основни проблеми и упућује на могућа решења.

Комисија оцењује да је увод написан концизно и систематично и да пружа јасан и целокупан приказ актуелне проблематике истраживања. Детаљан преглед доступних сазнања из литературе указује на адекватно познавање предметне области истраживања и актуелног стања истраживања у свету.

ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА - Главни циљ докторске дисертације је испитати могућност употребе секундарних метаболита цијанобактерија као биомаркера у палеоклиматској реконструкцији. Специфични циљеви истраживања су дефинисани прецизно и недвосмислено, у хијерархијском низу. Циљеви су изведени на основу прегледа досадашњих сазнања о секундарним метаболитима цијанобактерија описаних у прегледу литературе и на основу познавања круцијалних елемената поставке BLOCDUST хипотезе.

Комисија оцењује да су сви дефинисани циљеви истраживања у складу са циљевима наведеним приликом пријаве теме докторске дисертације, јасно су формулисани и одговарају садржају дисертације.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ - У овом поглављу, кандидаткиња прецизно даје приказ материјала и метода коришћених приликом израде докторске дисертације. Кандидаткиња описује Новосадску колекцију култура (NSCCC), порекло култура, локалитете узорковања леса и биолошких лесних покорница, начин узорковања на терену и спровођење експеримената. Такође, наводи и детаљно објашњава спроведене анализе сојева и сакупљених узорака, од поступка култивације, идентификације до поступка реализације анализа.

С обзиром на то да је због комплексности молекула сцитонемина и микоспоринусличних аминокиселина тешко са сигурношћу говорити да су спектрофотометријски анализирани метаболити сцитонемин и микоспорину сличне аминокиселине, у докторској дисертацији су уведене нове скраћенице: **МОСА** - метаболити у опсегу сцитонемин апсорбанце и **МОМА** - метаболити у опсегу микоспорин апсорбанце.

Водени и земљишни сојеви NSCCC су излагани истим абиотичким условима ради анализе продукције и процене стабилности МОСА и МОМА. Лесне културе NSCCC су анализирани на продукцију фикобилина, МОСА и МОМА. Продукција фикобилина је анализирана у оптималним условима раста, а продукција МОСА и МОМА је анализирана деловањем УВ светлости. Процена

стабилности фикобилина, МОСА и МОМА код лесних цијанобактерија је рађена након теста биодеградабилности. Услед излагања различитим експерименталним третманима приказ метода (као и резултата) је подељен на поглавља о продукцији и стабилности пигмената код водених и земљишних цијанобактерија, а потом и на продукцију и стабилност код лесних цијанобактерија.

На воденим, земљишним и лесним културама цијанобактерија, које су предмет докторске дисертације, рађени су и објашњени следећи поступци:

- Анализе продукције зависно од утицаја срединских фактора и процена стабилности помоћних и заштитних пигмената цијанобактерија NSCCC деловањем абиотичких и биотичких фактора;
- Квантитативно одређивање концентрације фикобилина спектрофотометријом;
- Квантитативно одређивање концентрације МОСА спектрофотометријом - поступак припреме и процедура екстракције су рађени по методи за екстракцију сцитонемина уз мале модификације;
- LC-MS(/MS) анализа сцитонемина екстрахованог из цијанобактерија;
- Квантитативно одређивање концентрације МОМА спектрофотометријом - поступак припреме и процедура екстракције су рађени по методи за екстракцију микоспорину сличних аминокиселина уз мале модификације;
- Припреме и процедура за процену токсичности лесних култура цијанобактерија NSCCC коришћењем *Artemia salina* биоесеја;
- Припреме и процедуре за квантитативно одређивање концентрације микроцистина, цилиндроспермопсина и сакситоксина ELISA тестом (Mikrocistin Plate Kit, Cilindrospermopsin Plate Kit i Saksitoksin Plate Kit (Beacon Analytical Systems, INC., Saco, ME, USA)), LC-MS(/MS) (за микроцистине и цилиндроспермопсин) и HPLC методом (за сакситоксине);
- Изолације бактеријских сојева пореклом из биолошких лесних покорица; припреме културе *Microcystis aeruginosa* PCC 7806; процедуре теста биодеградабилности и процедуре за квантификацију деградације микроцистина коришћењем ELISA теста.

На крају поглавља је део посвећен опису статистичких метода обраде података.

Комисија оцењује да су материјал и методе коришћени у дисертацији адекватни у односу на постављене циљеве истраживања. Материјал и методе су наведени веома прецизно и систематично и омогућавају поновљивост анализа и експеримената. За статистичку обраду експерименталних резултата коришћени су савремени софтверски програми, примерени врсти добијених података, што је пружило обраду резултата на адекватан и валидан начин.

РЕЗУЛТАТИ - Први део резултата је подељен на потпоглавља у односу на резултате о продукцији и стабилности пигмената водених и земљишних цијанобактерија, и према продукцији и стабилности пигмената лесних цијанобактерија. Водене и земљишне цијанобактерије су детаљније и додатним методама обрађене, па из тог разлога одвојене од лесних цијанобактерија. Потом следе поглавља са резултатима анализе присуства МОСА и МОМА у лесним узорцима и биолошким лесним покорицама. Дат је и приказ детекције сцитонемина у анализираним културама цијанобактерија у виду LC-MS(/MS) хроматограма. На крају дела о пигментима је статистичка анализа интеракције срединских фактора на продукцију МОСА и МОМА применом АММИ модела. Након поглавља о пигментима следе поглавља посвећена токсичности и продукцији цијанотоксина лесних цијанобактерија и стабилности микроцистина након теста биодеградабилности. Резултати су праћени графичким приказом, објашњени јасно и кратко, без сувишних коментара. Текст јасно прати приложене графиконе и упућује на истакнуте резултате. Добијени резултати доказују мултидисциплинаран и веома широк и зрео приступ кандидаткиње задатој теми.

Комисија оцењује да су резултати изложени прегледно, јасни су за интерпретацију и научно веома значајни. Резултати произилазе из адекватно примењене методологије уз коришћење одговарајућих статистичких метода обраде података.

ДИСКУСИЈА - Дискусија је написана у виду потпоглавља која су смислено организована и прате резултате добијене током истраживања. У дискусији су протумачени добијени резултати и упоређени са резултатима из постојеће литературе. Међутим, ограничен је број сличних истраживања, како у случају продукције сцитонемина и микоспорину сличних аминокиселина

цијанобактерија и процене стабилности у смислу њихове потенцијалне употребе у геолошким истраживањима, тако и у анализама продукције цијанотоксина у терестричним срединама што додатно доприноси фундаменталном и апликативном значају резултата докторске дисертације. Анализа продукције пигмената приказана је кроз компарацију анализираних култура цијанобактерија NSCCC, а потом је применом АМММ модела приказано издвајање одговарајућих метаболита као биомаркера у палеоклими. У прилог потврде коришћења ових метаболита као поузданих биомаркера у лесним срединама, рађена је и компаративна анализа садржаја МОСА и МОМА узорака лесног седимента и биолошких лесних покорица. Дата је и процена могућности примене метаболита као биомаркера у палеоклиматској реконструкцији. Потом је у наредним поглављима приказан преглед резултата о продукцији цијанотоксина лесних култура цијанобактерија, процена стабилности микроцистина и дат преглед литературе о продукцији, стабилности цијанотоксина као и потенцијалним путевима експозиције у терестричним срединама, као неизоставног сегмента услед важности са здравственог аспекта. Дата су могућа објашњења добијених резултата и могући сценарио о природи и судбини цијанотоксина у терестричним, односно лесним срединама. У завршном делу дискусије су дата закључна разматрања о палеоклиматској реконструкцији на бази биомаркера цијанобактерија, као и принцип анализе климатских услова применом нових биомаркера. Поглавље дискусија се завршава предлозима за побољшање будућих истраживања.

*Комисија оцењује да је поглавље **дискусија** написано прегледно и свеобухватно, праћено јасном аргументацијом и критичким освртом у односу на актуелну литературу из области истраживања. Поглавље је усклађено са резултатима и свим осталим деловима дисертације.*

ЗАКЉУЧЦИ - Таксативно наведени закључци одговарају на све постављене циљеве. Логичким редом су сумирани сви добијени резултати у смислу могућег коришћења одређене групе секундарних метаболита цијанобактерија као биомаркера у палеоклиматској реконструкцији и на основу тих података дати јасни и прецизни закључци.

*Комисија оцењује да поглавље **закључак** у потпуности даје одговоре на постављене циљеве докторске дисертације. Закључци су утемељени на резултатима истраживања и јасно и прецизно су формулисани.*

ЛИТЕРАТУРА - Литература цитирана у докторској дисертацији обухвата 652 библиографских јединица. Литература је прецизно сложена и приказана на уједначен начин у тексту и у списку коришћене литературе.

*Комисија оцењује да је цитирана **литература** савремена и са различитих аспеката проучава описану проблематику у докторској дисертацији.*

На основу свега изложеног, Комисија је позитивно оценила све делове докторске дисертације.

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

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у часопису са ISI листе односно са листе министарства надлежног за науку када су у питању друштвено-хуманистичке науке или радове који могу заменити овај услов до 01. јануара 2012. године. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

Pantelić, D., Svirčev, Z., Simeunović, J., Vidović, M., Trajković, I. (2013): Cyanotoxins: characteristics, production and degradation routes in drinking water treatment with reference to the situation in Serbia. Chemosphere 91(4): 421-441. (M21)

Svirčev, Z., Marković, S.B., Stevens, T., Codd, G.A., Smalley, I., Simeunović, J., Obrecht, I., Dulić, T., **Pantelić, D.**, Hambach, U. (2013): Importance of biological loess crusts for loess formation in

semi-arid environments. *Quaternary International* 296: 206-215. (M22)

Svirčev, Z., Simeunović, J., Subakov-Simić, G., Krstić, S., **Pantelić, D.**, Dulić, T. (2013): Cyanobacterial blooms and their toxicity in Vojvodina lakes, Serbia. *International Journal of Environmental Research* 7(3): 845-858. (M22)

Meriluoto, J., Blaha, L., Bojadzija, G., Bormans, M., Brient, L., Codd, G.A., Drobac, D., Faassen, E.J., Fastner, J., Hiskia, A., Ibelings, B.W., Kaloudis, T., Kokocinski, M., Kurmayer, R., Quesada, A., **Pantelić, D.**, Salmaso, N., Tokodi, N., Triantis, T.M., Visser, P.M., Svirčev, Z. (2017): Toxic cyanobacteria and cyanotoxins in European waters – recent progress achieved through the CYANOCOST Action and challenges for further research. *Advances in Oceanography and Limnology*, 8(1):- . DOI: 10.4081/aiol.2017.6429.

Pantelić, D., Bojadzija, G., Meriluoto, J., Svirčev, Z. (2017): Review of geographical distribution of cyanotoxins and cyanobacterial poisonings on a global scale. Cyanotoxins-toxicity, health and environmental impact-SCOPE Workshop. July 13–14, 2017, Novi Sad, Serbia, poster presentation. Abstract book: pp. 18. ISBN 978-86-7031-356-9 (M34)

Dulić, T., Obreht, I., Palanački Malešević, T., **Pantelić, D.**, Kosijer, P., Svirčev, Z. (2017): Cyanobacteria in terrestrial environments - is there importance underestimated? Cyanotoxins-toxicity, health and environmental impact-SCOPE Workshop. July 13–14, 2017, Novi Sad, Serbia, oral presentation. Abstract book: pp. 16. ISBN 978-86-7031-356-9 (M34)

Pantelić, D., Dulić, T., Tokodi, N., Drobac, D., Fassen, E., Palanački Malešević, T., Savela, H., Važić, T., Fan, T., Meriluoto, J., Svirčev, Z. (2016): Cyanobacteria-specific compounds as biomarkers in loess research. Conference Loess2M modelling & mapping, 26th - 29th August 2016. Novi Sad, Serbia. Abstract book: 32-33. ISBN 978-86-7031-408-5. Serbian Academy of Sciences and Arts. Inqua Loess Focus Group. University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Geography, Tourism and Hotel Management. (M34)

Svirčev, Z., Marković, S.B., Stevens, P.T., Codd, G.A., Smalley, I.J., Važić, T., Dulić, T., Simeunović, J., Obreht, I., **Pantelić, D.**, Hambach, U. (2013): Importance of cyanobacteria and cyanotoxins for loess formation in semi-arid environments. INQUALoess2013 Workshop, 'Loess & Dust: Geography-Geology-Archaeology', University of Leicester, 10-12 September 2013. Abstract book: 8-9. (M34)

Svirčev, Z., Marković, S.B., Stevens, T., Smalley, I., Obreht, I., Hambach, U., Dulić, T., **Pantelić, D.** (2012): Importance of biological loess crusts for loess formation in semi-arid environments. International conference on loess research Tribute to Edward Derbyshire, Loess in China and Europe, Novi Sad, September 27th-30th. Abstract book: 77-78. (M34)

Drobac, D., Tokodi, N., **Pantelić, D.**, Krstić, K. (2011): The health risk assesment related to cyanotoxin exposure. 16th Academy of Studenica: Cyanobacteria and human health. 1-3 July, Novi Sad, Serbia. Abstract book: 13-37. (M34)

На основу правилника докторских студија Универзитета у Новом Саду, Комисија констатује да кандидат испуњава услове за одбрану докторске дисертације.

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Докторска дисертација имала је за циљ да испита потенцијал секундарних метаболита цијанобактерија као биомаркера у палеоклиматској реконструкцији. С обзиром на недоступност стандарда сцитонемина и микоспорину сличних аминокиселина, а услед комплексности молекула, тешко је са сигурношћу говорити да су спектрофотометријски анализирани молекули сцитонемин и микоспорину сличне аминокиселине, стога су у докторској дисертацији уведене нове скраћенице - МОСА (метаболити у опсегу сцитонемин апсорбанце) и МОМА (метаболити у опсегу микоспорин апсорбанце). Ови метаболити су истих екофизиолошких и спектрофотометријских карактеристика као и сцитонемин, односно микоспорину сличне аминокиселине. На основу истраживања која су спроведена током израде докторске дисертације у периоду од 2010. до 2016. године, могу се потврдити постављени циљеви и закључити следеће:

1. Резултати добијени истраживањем описују ефекте рН, температуре и извора светлости у корелацији са садржајем азота на продукцију МОСА и МОМА водених и земљишних цијанобактерија коришћењем АММИ модела који пружа допринос одабиру одговарајућих биомаркера у палеоклиматској реконструкцији. Анализирани цијанобактеријски сојеви су показали значајан метаболички одговор током третмана различитим еколошким факторима. Анализом продукције МОСА и МОМА 15 водених и земљишних цијанобактерија способност продукције МОСА је уочена код 8, а МОМА код свих водених и земљишних сојева. УВ светлост је имала најзначајнији утицај на стимулацију продукције МОСА. Иако је УВ светлост довела до највеће продукције МОМА, продукција ових метаболита је такође била стимулирана различитим стресним факторима, укључујући рН, температуру и азот. Анализом продукције пигмената 19 лесних цијанобактерија NSCCC присуство фикобилина и МОСА је уочено у свим анализираним културама, док способност продукције МОМА није уочена у две културе лесних цијанобактерија NSCCC. Пореди и процењујући значај МОСА и МОМА, предност се може дати МОСА из два разлога: 1) МОСА продуктују све истраживане лесне културе, а МОМА већина; и 2) МОСА јасно указује на присуство појачаног УВ зрачења, док МОМА указује генерално на присуство стресних фактора. У том смислу МОСА је универзалнији и специфичнији метаболит од МОМА.

2. Процењом стабилности МОСА и МОМА деловањем абиотичких фактора (различитих рН и температурних вредности подлоге, различитог времена излагања УВ светлости) утврђено је да су МОСА и МОМА показали изражену стабилност на тестиране абиотичке факторе и показали су потенцијал за презервацију. Процењом стабилности пигмената након деловања биотичких фактора приметна је интензивнија разградња укупних фикобилина посматрано у зависности од времена, до постизања потпуне деградације у поједним културама лесних цијанобактерија, док је уочено да су МОСА и МОМА показали стабилну структуру и у тесту биодеградабилности није дошло до њихове деградације. На основу ових резултата може се закључити да су МОСА и МОМА много подеснији за палеоклиматску реконструкцију од фикобилина с обзиром да имају постојанију структуру и да нису деградирани током посматраних стресних услова. Због специфичне појаве у средини и таксономске припадности цијанобактеријама, као и високе стабилности, МОСА и МОМА имају изузетан потенцијал да се користе као цијанобактеријски биомаркери у палеоклиматској реконструкцији.

3. Анализом присуства МОСА и МОМА у лесном седименту и биолошким лесним покорицама њихово присуство је уочено у свим анализираним узорцима, са знатно израженијом концентрацијом МОСА у узорцима биолошких лесних покорица. Ови резултати доводе до закључка да се МОСА могу сматрати поузданим биомаркерима у лесним срединама, где је услед недостатака традиционално коришћених метода круцијално увођење нових приступа у квалитативној палеоклиматској реконструкцији леса - као терестричног архива од непроцењивог геолошког значаја. Утврђивањем присуства МОСА и МОМА може се говорити о релативним климатским условима који су владали у прошлости, у временској ери коју одговарајући слој седимента представља.

4. Потенцијал МОСА и МОМА као биомаркера у палеоклиматској реконструкцији се сматра једнако корисним као и потенцијал сцитонемина и микоспорину сличних аминокиселина, будући да им је продукција у великој зависности од фактора спољашње средине и да им је структура стабилна. И поред тога, квалитативном анализом МОСА LC-MS(/MS) методом је детектовано присуство сцитонемина у 10 узорака, чиме је недвосмислено доказано присуство сцитонемина. Будући да је у овој дисертацији јасно показано какве еколошке (климатске) услове осликавају метаболити МОСА - сцитонемин групе метаболита, а на које еколошке факторе указује присуство МОМА - микоспорин метаболита, није толико важно како ће се они називати, колико је битно да се они детектују веома

једноставном и материјално незахтевном методом. Са малим адаптацијама, овом методом се могу анализирати метаболити и на терену, број узорака је практично неограничен јер су припрема и читање узорака брзи и једноставни, што се никако не би могло постићи анализама сцитонемина и микоспорину сличних аминокиселина комплексним и високо софистицираним методама.

5. Анализом токсичности и продукције микроцистина, цилиндроспермопсина и сакситоксина лесних цијанобактерија NSCCC коришћењем *Artemia salina* биоесеја, ELISA теста, LC-MS(/MS) и HPLC метода добијени су негативни резултати. Проценом стабилности микроцистина референтног соја *Microcystis aeruginosa* PCC 7806, уочена је његова изразита стабилност током анализираниог временског периода у контролним условима и деловањем три различита соја бактерија изолованих из биолошких лесних покорица. С обзиром да недостају одговарајуће, валидне методе детекције цијанотоксина пореклом из терестричних средина, а да је већина детектованих родова позната као токсин-произвођача, неопходне су додатне анализе пре изношења финалног закључка. На основу наведеног може се закључити да услед немогућности детекције цијанотоксина лесних цијанобактерија, и поред стабилности микроцистина референтног соја, цијанотоксини се не могу сматрати адекватним биомаркерима цијанобактерија у геолошким истраживањима.

6. Истраживањима у докторској дисертацији је по први пут урађена анализа и детекција присуства МОСА и МОМА у лесу и биолошким лесним покорицама, чиме је дата потврда о присуству цијанобактерија у лесу што пружа доказе постављене BLOCDUST хипотезе за оправдано повезивање био- (BLOC - *Biological LOess Crust*, биолошке лесне покорице) и гео-компоненте (DUST - прашина) у процесу формирања леса. На тај начин је овом докторском дисертацијом поткрепљена и подржана поставка BLOCDUST хипотезе, што има посебан значај на путу превођења ове хипотезе у теорију.

7. Предложени сценарио употребе секундарних метаболита цијанобактерија у палеоклиматској реконструкцији се може сматрати као један од основа за палеоклиматску реконструкцију на локалном и регионалном нивоу, и за развијање нових биомаркера у лесним срединама. Резултати докторске дисертације би се могли користити у смислу доказивања биолошког значаја у процесу формирања леса, и доказивање везе између климе, биолошких лесних покорица и процеса формирања леса. Предложени сценарио се може сматрати иновативним у палеоклиматској реконструкцији, а развој нових, квалитативних палеоклиматских показатеља може иницирати нову еру лесних истраживања у будућности.

На основу наведеног, Комисија оцењује да су добијеним резултатима и изведеним закључцима испуњени постављени циљеви овог истраживања и позитивно оцењује резултате и закључке истраживања.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Кандидаткиња је јасно и темељно приступила приказу, обради и тумачењу резултата који су успешно систематизовани у логичке целине у облику поглавља и потпоглавља. Резултати истраживања и целокупног рада на докторској дисертацији су приказани систематично уз помоћ табела, графика и шематског приказа. Добијени резултати су јасно тумачени, а на основу њих су изведени закључци који одговарају предмету истраживања и пружају одговоре на постављене циљеве истраживања. Тумачење резултата рада је уверљиво, научно оправдано и подржано литературним изворима. Резултати су обрађени применом адекватних статистичких анализа. Приказ и тумачење резултата задовољавају захтеве нивоа докторске дисертације.

Комисија је позитивно оценила начин приказа и тумачења резултата докторске дисертације.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме Комисија сматра да је дисертација кандидата Дијане Пантелић написана у складу са образложењима наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе
Докторска дисертација садржи све битне елементе оригиналног научног рада, као што су: дефинисање предмета, преглед постојећих истраживања, циљева и значаја истраживања, приказ адекватне методологије рада, систематичан приказ резултата, адекватна дискусија резултата и правилно и прецизно изведени закључци на основу добијених резултата. У списку литературе налазе се све литературне јединице које су цитиране у тексту дисертације.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци
Оригинални научни допринос урађене докторске дисертације постигнут је реализацијом постављених циљева истраживања. Докторска дисертација представља оригиналан допринос из следећих разлога:

- Због ограниченог броја доступних података о продукцији сцитонемина и микоспорину сличних аминокиселина цијанобактерија пореклом из различитих станишта, значај је сагледан у датом прегледу продукције секундарних метаболита водених, земљишних и лесних цијанобактерија.
- По литературним наводима очигледни су недостаци и изостанак традиционално коришћених метода у палеоклиматској реконструкцији леса. Током израде докторске дисертације из тог разлога су, по први пут у научним истраживањима, уведени специфични биомаркери цијанобактерија у палеоклиматској реконструкцији лесних седимената.
- Истраживањима у докторској дисертацији је по први пут урађена анализа и детекција присуства метаболита у опсегу сцитонемин апсорбанце и метаболита у опсегу микоспорин апсорбанце у лесу и биолошким лесним покорицама и дата потврда BLOCDUST хипотезе о биоеном пореклу леса.
- Потврђена је изразита стабилност метаболита у опсегу сцитонемин апсорбанце и у опсегу микоспорин апсорбанце након деловања абиотичких и биотичких фактора.
- Евидентно је одсуство истраживања о присуству и дејству цијанотоксина, као и о њиховој биоакумулацији, екотоксиколошким ефектима и путевима експозиције у терестричним, односно лесним срединама. Докторском дисертацијом су изложени могући проблеми у детекцији и квантификацији цијанотоксина у терестричним срединама и представљени потенцијални путеви експозиције.

- Докторска дисертација има фундаменталан научни значај у области палеоклиматске реконструкције лесних седимената као најконтинуранијег терестричног архива климатских промена, а с обзиром на недостатке традиционално коришћених показатеља палеоклиме. Резултатима докторске дисертације даје се допринос квалитативној палеоклиматској реконструкцији коришћењем МОСА и МОМА, чиме ће се пружити могућност релативног објашњења климатских услова који су владали у прошлости.
- Предложени сценарио употребе секундарних метаболита цијанобактерија у палеоклиматској реконструкцији се може сматрати као један од основа за палеоклиматску реконструкцију на локалном и регионалном нивоу. Резултати докторске дисертације би се могли користити у смислу доказивања биолошког значаја у процесу формирања леса, и доказивање везе између климе, биолошких лесних покорица и процеса формирања леса. На тај начин је овом докторском дисертацијом поткрепљена и подржана поставка "BLOCDUST" хипотезе, што има посебан значај на путу превођења ове хипотезе у теорију.

Кандидат је показао зрелост, знање и критички однос у представљању и разматрању добијених резултата и правилно је изводио закључке из истих. Резултати постигнути истраживањима у докторској дисертацији указују на потребу за даљим истраживањима цијанобактерија и њихових секундарних метаболита на подручју палеоклиматске реконструкције.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања
Увидом у докторску дисертацију и детаљним прегледом свих резултата комисија није уочила недостатке у изради докторске дисертације који би утицали на резултате истраживања и закључке рада.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

-да се докторска дисертација под насловом „**Потенцијал секундарних метаболита цијанобактерија као биомаркера у палеоклиматској реконструкцији**“ прихвати, а кандидаткињи **Дијани Пантелић** одобри одбрана.

У Новом Саду, 27.07.2017. године

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ:

проф. др Јелица Симеуновић, ванредни професор
Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, Председник

проф. др Зорица Свирчев, редовни професор
Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, Ментор

Академик проф. др Слободан Б. Марковић, редовни професор
Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, Члан

проф. др Снежана Б. Симић, ванредни професор
Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу, Члан