

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ		
1. Датум и орган који је именовао комисију: 16.7.2021., Наставно-научно веће Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду		
2. Састав комисије у складу са <i>Правилима докторских студија Универзитета у Новом Саду</i> :		
1. др Зорица Свирчев	Редовни професор	Хидробиологија, 1.1.2005.
презиме и име	звање	ужа научна област и датум избора
Департман за биологију и екологију, ПМФ, Универзитет у Новом Саду, Нови Сад		Председник
установа у којој је запослен-а		функција у комисији
2. др Снежана Симић	Редовни професор	Екологија, биогеографија и заштита животне средине, 23.4.2019.
презиме и име	звање	ужа научна област и датум избора
Институт за биологију и екологију, ПМФ, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац		Члан
установа у којој је запослен-а		функција у комисији
3. др Десанка Костић	Доцент	Зоологија, 1.3.2019.
презиме и име	звање	ужа научна област и датум избора
Департман за биологију и екологију, ПМФ, Универзитет у Новом Саду, Нови Сад		Члан
установа у којој је запослен-а		функција у комисији
4. др Божидар Рашковић	Ванредни професор	Примењена зоологија и рибарство, 13.11.2018.
презиме и име	звање	ужа научна област и датум избора
Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду, Београд		Члан
установа у којој је запослен-а		функција у комисији
5. др Дамјана Дробац Бацковић	Научни сарадник	Хидробиологија, 25.1.2017.
презиме и име	звање	ужа научна област и датум избора
Департман за биологију и екологију, ПМФ, Универзитет у Новом Саду, Нови Сад		Члан
установа у којој је запослен-а		функција у комисији

II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<ol style="list-style-type: none"> 1. Име, име једног родитеља, презиме: Зоран, Драгутин, Мариновић 2. Датум рођења, општина, држава: 7.12.1990, Суботица, Република Србија 3. Назив факултета, назив претходно завршеног нивоа студија и стечени стручни/академски назив: Департман за биологију и екологију, ПМФ, Универзитет у Новом Саду, Нови Сад; мастер академске студије Мастер Биолог (модул Зоологија); Мастер биолог 4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија: 2014., Доктор наука – биолошке науке
<p>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ: Цветање цијанобактерија, присуство цијанотоксина и њихов утицај на рибе у појединим воденим екосистемима Србије и Мађарске</p>
<p>IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ: Докторска дисертација је написана српском језиком, латиничним писмом. Написана је на 179 страница и садржи 8 целина: (1) Увод написан на 3 стране; (2) Преглед литературе – 36 страна; (3) Циљеви – 1 страна; (4) Материјал и методе – 22 стране; (5) Резултати и дискусија – 68 страна; (6) Закључци – 2 стране; (7) Литература – 41 страна; (8) Прилози – 2 стране. Дисертација садржи и 47 слика, 25 табела и 5 прилога. Поред наведених поглавља, дисертација садржи и кључну документацију на српском и енглеском језику, захвалницу, биографију кандидата, листу скраћеница, резиме на српском и енглеском језику и план третмана података. Докторска дисертација се бави изучавањем појаве цветања цијанобактерија, присуства цијанотоксина као и њиховог утицаја на рибе у појединим воденим екосистемима Србије и Мађарске. У Србији је истраживање рађено на језеру Лудаш које је познато по свом више-деченијском цветању цијанобактерија, док је у Мађарској истраживање рађено на језеру Балатон као највећем језеру централне Европе, систему Киш-Балатон који као заштићено природно добро омогућава заштиту језера Балатон од цветања цијанобактерија, као и језеру Фехерварчурго које је битан рекреативни локалитет Мађарске. На свим локалитетима је урађена квалитативна и квантитативна анализа присуства цијанобактерија. Физичко-хемијски параметри воде су мерени како би се довели у корелацију са бројем ћелија цијанобактерија тј. са цветањем. С обзиром на то да је генетичка подобност сојева цијанобактерија за синтезу цијанотоксина најбитнији фактор за потенцијалну продукцију ових токсина, присуство цијанотоксин- (микроцистин- и сакситоксин-) кодирајућих гена је тестирано у биомаси свих локалитета. Такође, најчешће бележени токсини према литературним подацима (различите структурне варијанте микроцистина) и цилиндропермопсин су квантификовани у води, као и у ткивима риба поменутих локалитета. Помоћу хистопатолошке методологије провераван је утицај цијанотоксина на различита ткива риба (јетра, бубрези, шкрге, црево, слезина, гонаде и мишићи). Хистопатолошке промене су такође квантификоване како би се утврдиле сезонске разлике у оштећењима ткива, као и разлике између локалитета. Помоћу молекуларне методе је квантификована фрагментација ДНК, док су помоћу биохемијских метода установљене промене у активности ензима биотрансформације (Cyp1A1 и GST), као и у активности антиоксидативних ензима (CAT, SOD, GPx и GR). Резултати овог истраживања ће допринети бољем разумевању појаве цветања цијанобактерија, присуства цијанотоксина, а нарочито њиховог утицаја на друге организме, првенствено рибе, што има за циљ боље старање и управљање цветајућим екосистемима.</p>

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Наслов

Наслов докторске дисертације је јасно и прецизно формулисан и у складу је са тематиком и садржајем истраживања.

Увод

У овом поглављу је у веома кратким цртама дат приказ проблематике загађења животне средине услед деловања човека и представљен је проблем еутрофизације. Потом је укратко описан утицај ових појава на појаву цветања цијанобактерија и како то цветање проузрокује бројне економске проблеме за човека, као и негативне промене на остали живи свет.

Комисија оцењује да је у уводу јасно представљена проблематика загађења воде и цветања цијанобактерија, и да се на овај начин поставља основа за даљу и детаљнију обраду тематике дисертације.

Преглед литературе

Ово поглавље се састоји од 6 потпоглавља у којима се даје преглед владајућих литературних ставова и даје детаљан увид у проблематику којом се дисертација бави. У првом потпоглављу су описане основне морфолошке и физиолошке карактеристике цијанобактерија. У другом је описан утицај чинилаца животне средине на пренамножавање цијанобактерија и појаву „цветања“ цијанобактерија. Затим су описани најчешћи цијанотоксини, као и начин на који ови токсини могу да изазову штетне последице по здравље људи и животиња. У четвртом потпоглављу је представљен утицај цијанотоксина на рибе, а што укључује начин изложености риба овим токсинима, апсорпцију и акумулацију, као и токсичне ефекте испољене у ткивима риба. У петом потпоглављу су детаљно описани биомаркери који могу да се користе у сврху испитивања утицаја животне средине на рибе. У последњем потпоглављу је образложена потреба за испитивањем појаве цветања цијанобактерија, приказан је историјат појаве цијанотоксина и њихов утицај на рибе на различитим локалитетима Републике Србије и Мађарске, као и оправданост њиховог коришћења приликом рада на теми дисертације.

Комисија оцењује да је ово поглавље написано систематично и да је представљање актуелне литературе омогућило свеобухватно и савремено сагледавање проблематике којом се истраживање бави, те да је кандидат добро упознат са истраживањима у овој области и да је на адекватан начин описао проблематику којом се бави.

Циљеви

На основу података изнесених у предходна два поглавља, дисертација је имала за циљ да испита појаву цветања цијанобактерија на одабраним локалитетима Србије и Мађарске и да сагледа утицај цветања цијанобактерија на рибе. Ради остваривања циља, у дисертацији је дефинисано 6 подциљева од којих се сваки бави одређеним аспектом проблематике дисертације. Оваквим приступом дисертација може потенцијално да одговори на питања: (1) оправданости заштите језера Лудаш као специјалног резервата природе; (2) ефикасности реконструкције језера Киш-Баларон у заштити језера Балатон од цветања цијанобактерија; (3) ефекта цветања цијанобактерија на коришћење језера Фехерварчурго.

Комисија сматра да су циљеви истраживања јасно и прецизно дефинисани и да су у потпуности усклађени са формулацијама наведеним у пријави теме докторске дисертације.

Материјал и методе

Поглавље Материјал и методе се састоји из 8 потпоглавља од којих свако опсежно описује анализе кориштене у дисертацији. Прво потпоглавље даје опис локалитета. Одабран је један локалитет из Србије (језеро Лудаш) и три локалитета из Мађарске (Киш-Балатон, Балатон и Фехерварчурго), а затим је описан начин узорковања воде и риба за даље анализе у другом потпоглављу. У трећем потпоглављу је описан начин квантификације физичко-хемијских параметара воде, док је у четвртом описан поступак квалитативне и квантитативне анализе заједнице цијанобактерија. У петом потпоглављу представљен је поступак одређивања присуства цијанотоксин-кодирајућих гена

у биомаси цијанобактерија прекупљене из свих језера. У наредном потпоглављу је описан начин квантификације цијанотоксина из воде, биомасе цијанобактерија и ткива риба. Седмо потпоглавље описује хистолошку анализу и начин полуквантитативног оцењивања оштећења ткива, док последње, осмо, потпоглавље описује молекуларне и биохемијске анализе које су укључиле квантификацију фрагментације и промене у метилацији ДНК, као и промене у активности ензима биотрансформације (Cyp1A1 и GST) и оксидативног стреса (CAT, SOD, GPx и GR) у ткивима риба из језера Киш-Балатон.

Комисија сматра да је избор коришћених метода у овој дисертацији адекватан и да обезбеђује добијање у потпуности поузданих резултата у складу са постављеним циљевима дисертације. Такође, методе су описане јасно и детаљно чиме се у потпуности омогућава поновљивост коришћених метода.

Резултати и дискусија

Ово поглавље је подељено у 4 логичке целине где су у свакој целини описани и дискутовани резултати свих анализа добијених за сваки појединачни локалитет. Такође, свака целина је подељена у потпоглавља где свако потпоглавље одговара одређеној анализи која је спроведена за дати локалитет. Након представљања резултата сваке анализе, одмах су и дискутовани прво посебно, а затим су сви локалитети поређени према свакој од анализа. Овакав приказ омогућава прегледнији приказ резултата и њихово дискутовање, као и сумирање налаза у упоредном прегледу свих анализираних екосистема. Ово је додатно омогућено последњим потпоглављем у којем је описан значај добијених резултата за даље управљање датог екосистема.

У првој целини су описани резултати добијени за језеро Лудаш. Студија указује на веома лош квалитет воде овог језера, као и на интензивно цветање цијанобактерија које се одвијало током свих испитиваних сезона (март, мај, јул и септембар 2018. године). Такође је уочено присуство цијанотоксин-кодирajuћих гена (гени за микроцистин-синтетазу и сакситоксин-синтетазу) у биомаси, док су различите структурне варијанте микроцистина квантификоване у води током свих сезона. Цијанотоксини нису детектовани у ткиву риба. Хистопатолошка анализа је показала изражене промене у ткивима јетре, бубрега и шкрга, док промене нису уочене у цреву, слезини, гонадама (тестисима и оваријумима) и мишићима. Полуквантитативна анализа је потврдила резултате добијене квалитативним описом хистопатолошких промена. У завршном делу ове целине је описана опасност деловања цветања цијанобактерија на птице с обзиром да језеро Лудаш спада у ИВА подручја значајна за птице и биодиверзитет. Такође, кратко су дискутовани потенцијални начини за побољшање статуса овог језера.

У другој целини су описани резултати добијени за језера Киш-Балатон и Балатон, док су у трећој целини описани резултати добијени за језеро Фехерварчурго. Резултати добијени за језера Киш-Балатон и Фехерварчурго су слични резултатима добијеним за језеро Лудаш, односно забележено је цветање цијанобактерија, присуство ниских концентрација цијанотоксина у води и цијанотоксин-кодирajuћих гена у биомаси, као и хистопатолошке промене у органима испитиваних риба које су потврђене полуквантитативном анализом. У језеру Балатон уочени су знатно бољи квалитет воде, веома слаба пролиферација цијанобактерија, одсуство цијанотоксина, као и одсуство хистопатолошких промена у готово свим анализираним органима риба. Четврта целина обухвата општу дискусију у којој су упоређени резултати добијени за сва испитивана језера из којих су изведени најбитнији закључци дисертације.

Резултати су приказани јасно и недвосмислено, без сувишних коментара и понављања. Табеле и слике јасно прате текст и омогућавају једноставан прелазак са текста на податке приказане кроз њих. Резултати такође прате циљеве докторске дисертација док дискусија омогућава једноставно праћење и разумевање резултата и омогућава да се једноставно сагледају целине. Добијени резултати су аргументовано протумачени, уз критичко упоређивање са резултатима претходних истраживања.

Закључак

У овом поглављу су на основу добијених резултата и дискусије изведени јасни, концизни и поуздани закључци. Закључци су наведени таксативно како би одговорили на све постављене циљеве и сумирали све добијене резултате.

Комисија оцењује да су закључци јасни, концизни и произилазе из постављених циљева и добијених резултата.

Литература

Литература садржи 427 референци које обухватају најактуелнија истраживања из области којом се дисертација бави. Литература је прецизно и уједначено сложена и приказана.

Комисија сматра да је наведена литература актуелна и свеобухватна.

Прилози

Прилози представљају два HPLC-DAD хроматограма и два LC-MS хроматограма различитих сојева врсте рода *Microcystis*, као и LC-MS хроматограм стандарда за цилиндроспермопсин.

Прилози омогућавају јаснији увид у кориштене методе и олакшавају тумачење резултата квантификације цијанотоксина.

Комисија позитивно оцењује 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:

Рад у врхунском међународном часопису – **M21**

Marinović Z., Tokodi N., Drobac Backović D., Šćekić I., Kitanović N., Simić S., Đorđević N., Ferincz Á., Staszny Á., Dulić T., Meriluoto J., Urbányi B., Lujčić J., Svirčev Z. 2021. Does the Kis-Balaton Water Protection System (KBWPS) effectively safeguard Lake Balaton from toxic cyanobacterial blooms? *Microorganisms*, 9: 960. DOI: 10.3390/microorganisms9050960

Рад у међународном часопису – **M23**

Drobac Backović D., Tokodi N., **Marinović Z.**, Lujčić J., Dulić T., Simić S., Đorđević N., Kitanović N., Šćekić I., Urbányi B., Meriluoto J., Svirčev Z. 2021. Cyanobacteria, cyanotoxins, and their histopathological effects on fish tissue in Fehérvárcsurgó reservoir, Hungary. *Environmental Monitoring and Assessment*, Prihvaćeno za publikaciju.

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу – **M34**

Marinović Z., Drobac Backović D., Tokodi N., Lujčić J., Dulić T., Simić S., Đorđević N., Kitanović N., Šćekić I., Urbányi B., Meriluoto J., Svirčev Z. 2021. Cyanobacterial blooming in the Fehérvárcsurgó reservoir, Hungary. [Abstract] 56. *Croatian and 16. International Symposium of Agronomy*; 5-10.9.2021.; Vodice, Croatia. Prihvaćeno za publikaciju.

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА:

Испитивање цветања цијанобактерија, присуства цијанотоксина и њиховог утицајем на рибе у одабраним локалитетима Србије и Мађарске приликом израде ове докторске дисертације, довело је до следећих закључака:

- Вода језера Лудаш, Киш-Балатон и Фехерварчурго је била лошег квалитета, и имала је карактеристике еутрофних екосистема, док је вода језера Балатон олигомезотрофног карактера. У цветајућим екосистемима је примећено да су физичко-хемијски параметри воде били повезани са цветањем и бројем цијанобактерија, и осликавали су стандардну динамику интеракције броја ћелија и параметара воде;
- Интензивно цветање цијанобактерија је примећено у језерима Лудаш, Киш-Балатон и Фехерварчурго, док је концентрација цијанобактерија језера Балатон (~30.000 ћелија/мл) благо премашивала граничну вредност ниског ризика по здравље људи (20.000 ћелија/мл) предложену од стране Светске здравствене организације. Врсте цијанобактерија забележене у анализираним екосистемима (превасходно врсте родова *Microcystis*, *Aphanizomenon* и *Dolichospermum*) су космополитске врсте и често се јављају у екосистемима умереног појаса, а у језеру Лудаш је примећено и присуство инвазивне врсте *Raphidiopsis raciborskii*;
- У биомаси цијанобактерија свих анализираних локалитета су амплификовани гени кластера за микроцистин-синтетазу (*mcyE*) и ген кластера за сакситоксин-синтетазу (*sxtG*), док гени за цилиндропермопсин- (*cyrJ*) и анатоксин- (*anaC*) синтетазу нису амплификовани ни на једном локалитету;
- Различите структурне варијанте микроцистина су квантификоване у води језера Лудаш (4 варијанте), Киш-Балатон (5 варијанти) и Фехерварчурго (1 варијанта), док у језеру Балатон није квантификован микроцистин. Цилиндропермопсин није квантификован ни на једном анализираном локалитету. Ни један цијанотоксин није измерен у ткивима риба ни на једном анализираном локалитету;
- Интензивне хистопатолошке промене јетре, бубрега и шкрга су примећене код риба изловљених на језерима Лудаш и Киш-Балатон, док су промене поменутих органа риба из језера Фехерварчурго биле ниског интензитета, а код риба из језера Балатон нису забележене. Промене јетре и бубрега су биле најинтензивније на језерима Лудаш и Киш-Балатон, док су промене шкрга биле најинтензивније на језеру Киш-Балатон у поређењу са осталим локалитетима. Хистопатолошке промене црева, слезине, гонада и мишића нису забележене ни на једном од анализираних локалитета. Полуквантитативна анализа је омогућила статистичку потврду квалитативне анализе, али и поређење интензитета промена између различитих локалитета. Запажене промене су биле сличне променама уоченим и у другим истраживањима деловања цијанотоксина на рибе у лабораторијским и природним условима и вероватно су указивале на токсично дејство микроцистина;
- Код риба из језера Киш-Балатон током 2019. године није примећена фрагментација ДНК, док због техничких проблема није било могуће утврдити утицај цветања цијанобактерија на метилацију ДНК. У јетри, шкргама и гонадама ових риба су установљене промене у активности ензима детоксикације, као и у активности антиоксидативних ензима. Липидна пероксидација и промене активности антиоксидативних ензима су указивале на присуство оксидативног стреса у овим рибама.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА:

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

Кандидат Зоран Мариновић је показао систематичан научно-истраживачки приступ анализи различитих типова података у домену хидробиологије. Резултати су у складу са постављеним циљевима и приказани су логичким редоследом. Резултати су такође јасно тумачени на основу најновијих литературних података, док изведени закључци дају јасне одговоре на постављене циљеве докторске дисертације.

Напомена: докторска дисертација је прошла проверу оригиналности применом софтвера за детекцију плагијаризма iThenticate, који је показао да „индекс сличности“ (*eng. similarity index*)

износи 8%. Према упутству произвођача софтвера, све вредности испод 15% представљају оригиналан рад.

Начин приказа и тумачења резултата истраживања се оцењује позитивном оценом од стране чланова Комисије.

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?

Докторска дисертација је урађена у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе?

Докторска дисертација садржи све неопходне елементе научно-истраживачког рада.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци?

Дисертација је оригиналан допринос науци на пољу хидробиологија с обзиром на то да је по први пут, према доступним подацима:

- Испитана експресија цијанотоксин-кодирајућих гена у биомаси фитопланктона из језера Србије и Мађарске чиме је указан потенцијал цијанобактерија да производе цијанотоксине, чак и када они нису измерени у води;
- Детаљно приказан ефекат који цветање цијанобактерија и присуство цијанотоксина имају на рибе из природних локалитета (Лудаш, Киш-Балатон, Балатон и Фехерварчурго), као и могућност коришћења ових параметара као показатеља (биомаркера) токсичног цветања цијанобактерија;
- Употребљена полуквантитативна анализа у испитивању промена на ткивима различитих врста риба којом је указано на потенцијалне штетне промене услед излагања цијанотоксинима.

Додатна вредност прикупљених података састоји се у могућности њихове употребе при доношењу одлука у вези са коришћењем испитиваних екосистема од посебног значаја за Србију и Мађарску.

4. Који су недостаци дисертације и какав је њихов утицај на резултат истраживања?

Комисија није утврдила формалне нити суштинске недостатке који су могли утицати на резултате истраживања.

X ПРЕДЛОГ:
На основу наведеног, комисија предлаже:
<i>а) да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана;</i>
б) да се докторска дисертација врати кандидату на дораду (да се допуни односно измени);
в) да се докторска дисертација одбије.

Место и датум: Нови Сад, 30.7.2021.

1. Име, презиме, звање и потпис

Др Зорица Свирчев, председник

2. Име, презиме, звање и потпис

Др Снежана Симић, члан

3. Име, презиме, звање и потпис

Др Десанка Костић, члан

4. Име, презиме, звање и потпис

Др Божидар Рашковић, члан

5. Име, презиме, звање и потпис

Др Дамјана Дробац Бацковић, члан

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај и да исти потпише.