

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На IV редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 29. 01. 2016. године, прихваћен је извештај ментора др Бранке Вуковић-Гачић и др Мирјане Ленхардт о урађеној докторској дисертацији Каролине З. Суњог, истраживача сарадника на Институту за мултидисциплинарна истраживања, Универзитета у Београду, под насловом „Екогенотоксиколошка процена квалитета површинских вода комет тестом на различитим ткивима клена (*Squalius cephalus* L.)”, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Бранка Вуковић-Гачић, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, др Мирјана Ленхардт, научни саветник, Институт за мултидисциплинарна истраживања, Универзитет у Београду, др Зоран Гачић, научни саветник, Институт за мултидисциплинарна истраживања, Универзитет у Београду, др Стоимир Коларевић, научни сарадник, Биолошки факултет, Универзитет у Београду. Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација Каролине З. Суњог, под насловом „Екогенотоксиколошка процена квалитета површинских вода комет тестом на различитим ткивима клена (*Squalius cephalus* L.)”, обухвата 141 страну и садржи 8 поглавља: Увод (16 страна), Циљеви (1 страна), Материјал и методе (23 стране), Резултати (39 страна), Дискусија (15 страна), Закључци (3 стране), Литература (22 стране) и Прилог (22 стране). На почетку дисертације приложен је апстракт на српском и енглеском језику. Дисертација садржи: 54 табеле и 25 слика. Поглавље литература садржи 202 библиографске јединице.

Анализа докторске дисертације:

У докторској дисертацији кандидаткиња Каролина Суњог приказала је примену комет теста у детекцији ДНК оштећења на различитим ткивима клена (*Squalius cephalus* L.) у екогенотоксиколошкој процени квалитета површинских вода.

У поглављу **УВОД**, кандидаткиња је у оквиру шест подпоглавља дала детаљан приказ начина процене квалитета водених екосистема две акумулације, Гараши и Златар (Увац), и две реке, Пештан и Бељаница помоћу физичко-хемијских и микробиолошких параметара. Посебну пажњу кандидаткиња је посветила процени њиховог генотоксичног потенцијала и клену као биоиндикаторским организму, као и комет тесту као методи за детекцију оштећења ДНК молекула. Кандидатиња се бави и проценом акумулације метала и металоида преко анализе концентрација и односа у различитим ткива клена.

У оквиру поглавља **ЦИЉЕВИ** кандидатиња је поставила неколико циљева: процену квалитета воде са физичко-хемијског и микробиолошког аспекта, анализу микробиолошких параметара методом одговора интегрисаних биомаркера, ИБР (енгл. *Integrated biomarker response, IBR*), детекцију оштећења ДНК молекула алкалним комет тестом на ћелијама крви, јетре и шкрга код клена, рангирање параметара за процену оштећења ДНК молекула СРД методом (енгл. *Sum of ranking differences, SRD*), корелацију између нивоа оштећења ДНК молекула, физичко – хемијских и микробиолошких параметара, одређивање концентрације метала и металоида у јетри, шкргама, мишићу и гонадама клена, корелацију између нивоа оштећења ДНК молекула и концентрације метала и металоида у ткивима, упоредну анализу испитиваних локалитета на основу генотоксичности и концентрације метала и металоида у ткивима.

Поглавље **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** организовано је у 6 подпоглавља. Дат је опис подручја и локалитета на којима је рађено истраживање. Описана је методологија узорковања и анализе физичко-хемијских и микробиолошких параметара, као и узорковања јединки клена за екогенотоксиколошке анализе. Детаљно је описана методологија узорковања крви, јетре и шкрга клена за анализу оштећења ДНК молекула алкалним комет тестом. Паралелно са комет тестом, у јетри и шкргама, пратила се и концентрација метала и металоида уз помоћ индуктивно спрегнуте плазме – оптичко емисионе спектрометрије (ICP - OES). Анализа метала и металоида истом методом је урађена и у мишићима и гонадама. У статистичкој обради података кандидаткиња користи параметријске и непараметријске статистичке анализе, анализу главних компоненти (енгл. *Principal Component Analysis, PCA*), као и канонијску дискриминативну анализу (енгл. *Canonical Discriminant Analysis, CDA*). Анализе су рађене у програму Statistica 7.0 (StatSoft, UK).

Поглавље **РЕЗУЛТАТИ** је организовано у 6 подпоглавља. У оквиру прва три подпоглавља представљени су резултати истраживања са акумулација, Златар (Увац) и Гараши, и река Пештан и Бељаница у оквиру којих су приказани резултати квалитета воде на основу физичко- хемијских и микробиолошких анализа, као и резултати оштећења ДНК молекула и акумулација елемената у ткивима клена. Резултати оштећења ДНК молекула су приказани преко 2 параметра, ТИ (енгл. „*Tail Intensity*”), и ОТМ (енгл. „*Olive tail moment*”) изабраних за најпогодније на основу анализа рангирања вредности оштећења на ћелијама клена методом СРД. Акумулације Увац и Гараши су на основу анализе примарних нутријенета и вредности микробиолошких параметара класификовани у I класу воде, док је на основу оштећења ДНК молекула на ткивима клена Увац показао значајно ниже вредности. Реке Пештан и Бељаница се на основу физичко-хемијске анализе могу класификовати у III и IV класу вода, док се на основу микробиолошких параметара могу класификовати између I и III класе. ИБР метода дала је јасан увид у сезонско варирање фекалног и органског загађења, који су у порасту током пролећних месеци. Пештан и Бељаница показују високу корелацију оштећења ДНК током године. На овим локалитетима, у свим ткивима, уочен је пад ДНК оштећења током лета. На свим испитиваним локалитетима крв је показала најмање оштећење ДНК молекула у поређењу са јетром и шкргама. Анализа акумулације метала и металоида у различитим ткивима клена показала је висок степен њихове диференцијације, као и значајне разлике у дистрибуцији елемената у ткивима између испитиваних локалитета. Највеће концентрације већине анализираних метала и металоида су нађене у шкргама, јетри и гонадама, а најмање у мишићима на свим локалитетима. Канонијска дискриминантна анализа је у односу на укупни садржај елемената у ткивима, показала одвајање шкрга у односу на друга ткива на Пештану и Бељаници.

У четвртном подпоглављу је приказана корелација између нивоа оштећења ДНК молекула, физичко-хемијских и микробиолошких параметара. У петом подпоглављу је приказана корелација између нивоа оштећења ДНК молекула и концентрације елемената у јетри и шкргама, где су уочене корелација између ткива и метала Cr, Mn, Mo, Sr, Hg, Cu, Ba, Ni, Pb и Al. У шестом поглављу приказана је анализа главних компоненти за вредности оштећења ДНК у ткивима, која је показала груписање јединки клена са Пештана и Бељанице око виших вредности за све параметре генотоксичности. Такође је анализа главних компоненти за концентрације елемената у ткивима показала груписање јединки клена са Увца око већих вредности за већину елемената.

У поглављу **ДИСКУСИЈА** која је груписана у 6 подпоглавља, кандидаткиња компетентно дискутује добијене резултате поредећи их са подацима других аутора. У првом подпоглављу, дискутује се о квалитету воде акумулација Увац и Гараши. Висок квалитет воде на Увцу потврђен је ниским вредностима примарних нутријената, микробиолошких параметара и ДНК оштећења на ткивима клена, која су била нижа у поређењу са ДНК оштећењима на ткивима клена са остала три локалитета, Гараши, Пештан и Бељаница. Акумулација Гараши је такође показала висок квалитет воде, међутим, обрадиве површине које су распоређене око саме акумулације очигледно су довеле до уноса органског и другог материјала, а самим тиме и до пораста степена оштећења у ткивима клена у односу на Увац. У другом подпоглављу се дискутује о укупном квалитету воде река Пештан и Бељаница. Физичко-хемијске и микробиолошке методе су показале значајно лошији квалитет воде река у односу на акумулације, што се одразило и на повећање оштећења ДНК молекула на ткивима. У трећем поглављу кандидаткиња је коментарисала различити одговор и осетљивост ткива клена за детекцију оштећења ДНК молекула као и ткивно-специфичну акумулацију метала и металоида у ткивима. У поглављима четири и пет су тумачене корелације између физичко-хемијских и микробиолошких параметара воде са оштећењем ДНК, као и веза оштећења ДНК са концентрацијом елемената у ткивима клена. У шестом подпоглављу су се поредили локалитети на основу оштећења ДНК молекула, као и акумулације метала и металоида у ткивима.

У поглављу **ЗАКЉУЧЦИ**, кандидаткиња сумира добијене резултате из докторске дисертације. Изведени су закључци на основу резултата квалитета воде акумулација, Златар (Увац), Гараши и река Пештан и Бељаница преко анализе физичко-хемијских и микробиолошких параметара, као и резултата оштећења ДНК молекула на ткивима клена, у којима је и одређивана концентрација метала и металоида. Иако Увац има најмање вредности оштећења ДНК молекула у ткивима, повећане вредности појединих елемената, нису довеле до појаве већих оштећења на ДНК, што указује на могућност одређене адаптације ових јединки на дате количине метала у води. Показано је да притисак хемијског загађења антропогеног порекла доводи до значајног раста оштећења ДНК молекула у ткивима клена на осталим локалитетима, а посебно на рекама Пештан и Бељаница што је и у сагласности са чињеницом да се слив ових река налази у оквиру Колубарског басена лигнита са површинским коповима угља и депонијама пепела. На основу добијених резултата може се закључити да примена комет теста у детекцији ДНК оштећења представља значајан експериментални систем у екогенотоксиколошкој процени квалитета површинских вода.

Поглавље **ЛИТЕРАТУРА** садржи 202 библиографске јединице. Литературни извори су адекватно и на одговарајућим местима цитирани у тексту докторске дисертације.

У поглављу **ПРИЛОГ** су приказани подаци коришћени за анализу рангирања параметара за процену ДНК оштећења СРД методом, табеле са измереним вредностима дужине и тежине јединки клена коришћених у анализама, резултати анализе метала и металоида у свим узоркованим јединкама, као и резултати корелације елемената у оквиру сваког ткива клена.

Истраживања у овој докторској дисертацији урађена су у оквиру националног пројекта ОИ 173045 - „Рибе као биоиндикатори стања квалитета отворених вода Србије”. Добијени резултати, приказани у докторској дисертацији, штампани су у 4 рада у истакнутим међународним часописима од чега 2 у категорији М21, 1 у категорији М22 и 1 у категорији М23, што потврђује актуелност и перспективу овог приступа у екогенотоксиколошким истраживањима.

Радови и конгресна саопштења који чине део докторске дисертације:

Радови у часописима међународног значаја

1. **Sunjog, K.**, Kolarević, S., Héberger, K., Gačić, Z., Knežević-Vukčević, J., Vuković-Gačić, B., Lenhardt, M. (2013) Comparison of comet assay parameters for estimation of genotoxicity by sum of ranking differences *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405: 4879–4885. **M21 (IF=3.436)**
2. **Sunjog, K.**, Kolarević, S., Kračun-Kolarević, M., Gačić, Z., Skorić, S., Đikanović, V., Lenhardt, M., Vuković-Gačić, B. (2014) Variability in DNA damage of chub (*Squalius cephalus* L.) blood, gill and liver cells during the annual cycle. *Environmental toxicology and pharmacology* 37: 967-974. **M22 (IF=2.084)**
3. Lenhardt, M., Poleksić V., Vuković-Gačić, B., Rašković, B., **Sunjog K.**, Kolarević, S., Jarić I., Gačić Z. (2015) Integrated use of different fish related parameters to assess the status of water bodies. *Slovenian Veterinary Research* 52 (1): 5-13. Review Article **M23 (IF=0.222)**
4. **Sunjog, K.**, Kolarević, S., Kračun-Kolarević, M., Višnjić-Jeftić, Ž., Skorić, S., Gačić, Z., Lenhardt, M., Vasić, N., Vuković-Gačić, B. (2016) Assessment of status of three water bodies in Serbia based on tissue metal and metalloid concentration (ICP-OES) and genotoxicity (comet assay). *Environmental Pollution* 213: 600-607. **M21 (IF=4.143)**

Саопштења на страним конгресима штампана у целини

1. **Sunjog, K.**, Kolarević, S., Gačić, Z., Mićković, B., Nikčević, M., Knežević-Vukčević, J., Lenhardt, M., Vuković-Gačić, B. (2012) Ecogenotoxicity Analysis with Comet Assay in Different Tissues of Chub (*Squalius cephalus* L. 1758), Balwois 2012, Ohrid, Macedonia, Proceedings CD.
2. **Sunjog K.**, Kolarević S., Kračun-Kolarević M., Gačić Z., Lenhardt M., Vuković-Gačić B. (2015) Evaluation of river water genotoxicity with comet assay in different tissues of European chub. 7th International conference Water&Fish, Belgrade, Serbia, Conference Proceedings, 485-488.

Саопштења на страним конгресима штампана у изводу

1. **Sunjog, K.**, Kolarević, S., Gačić, Z., Mićković, B., Hegediš, A., Lenhardt, M., Knežević-Vukčević, J., Vuković-Gačić, B. (2011) Monitoring of DNA damage in different tissues of fish chub (*Squalius cephalus* L.) from rivers in Serbia with Comet Assay, 9th International Comet Assay Workshop, 13-16 September Kusadasi, Turkey. Book of abstracts 85.
2. **Sunjog, K.**, Vuković-Gačić B., Kolarević, S., Kračun, M., Knežević-Vukčević, J., Gačić Z., Lenhardt, M. (2012) Ecogenotoxicity analyses on European chub *Squalius cephalus* (L. 1758) using alkaline comet assay, European Environmental Mutagen Society (EEMS), Warsaw, Poland. Book of abstracts.
3. Lenhardt, M., Polekić, V., Vuković-Gačić, B., Rašković, B., **Sunjog, K.**, Kolarević, S., Jarić, I., Gačić, Z. (2012) Assessment of the status of water bodies using different fish parameters. An international symposium on State of Lake Varnern Ecosystem – Past, present and future, Vanersborg, Sweden, Book of abstracts, 34.
4. **Sunjog, K.**, S. Kolarević, Heberger, K., Gačić, Z., Knežević-Vukčević, J., Vuković-Gačić, B., Lenhardt, M. (2012) Comparison of comet assay parameters for the estimation of genotoxicity based on the sum of ranking differences, XIII Chemometrics in Analytical Chemistry, Budapest, Hungary, Book of abstracts, 163.
5. K., Sunjog, Kolarević S., Kračun-Kolarević M., Gačić Z., Lenhardt M., Vuković-Gačić B. The anthropogenic impact on water quality of the Kolubara basin in Serbia: microbiological analysis and genotoxicity monitoring. 9th Balkan Congress of Microbiology, Thessaloniki, 2015. Book of abstracts, 192.
6. K., Sunjog, Kolarević, S., Kračun-Kolarević, M., Gačić, Z., Lenhardt, M., Vuković-Gačić, B. Heavy metal levels and DNA damage in different tissues of European chub (*Squalius cephalus*). III Simpozijum biologa i ekologa Republike Srpske, Banja Luka, 2015, Zbornik sažetaka, 87

7. Sunjog, K., Kolarević, S., Kračun-Kolarević, M., Gačić, Z., Lenhardt, M., Vuković-Gačić, B. (2016). Heavy metal accumulation and the genotoxicity in European chub (*Squalius cephalus*) as indicators of the river water pollution. 1st GLOBAQUA International Conference Managing The Effects Of Multiple Stressors On Aquatic Ecosystems Under Water Scarcity, Freising, Germany, Book of abstracts, 108.

Саопштења на домаћим конгресима штампана у целини:

1. **Sunjog, K.**, Kolarević, S., Gačić, Z., Skorić, S., Kračun, M., Knežević-Vukčević, J., Lenhardt, M., Vuković-Gačić, B. (2013) Primena komet testa za detekciju genotoksičnog potencijala reka Peštan i Beljanica na tkivima klena (*Squalius cephalus* L. 1758). The 42nd Annual Conference of the Serbian Water Pollution Control Society "Water 2013", Perućac, Serbia, Proceedings, 59-64.
2. **Sunjog, K.**, Kolarević S., Kračun-Kolarević M., Gačić Z., Lenhardt M., Vuković-Gačić B. (2015) Procena genotoksičnog potencijala voda reka Beljanica i Peštan komet testom. 44. Konferencija o korišćenju i zaštiti voda, Kopaonik, Srbija, Conference Proceedings, 211-216.

Саопштења на домаћим конгресима штампана у изводу:

1. Kostić, J., **Sunjog K.**, Kolarević, S., Kračun-Kolarević, M., Aborgiba, M., Knežević-Vukčević, J., Vuković-Gačić, B. (2015) Primena IBR metode (Integrated Biomarker Response) u mikrobiološkoj analizi vodenih ekosistema. X Konges Mikrobiologa Srbije, Beograd, Book of abstracts 228.

Мишљење и предлог Комисије:

Докторска дисертација Каролине Суњог, под насловом “**Екогенотоксиколошка процена квалитета површинских вода комет тестом на различитим ткивима клена (*Squalius cephalus* L.)**” представља свестрано и савремено урађену студију из области екогенотоксикологије. Докторска теза написана је у складу са образложењем наведеним у пријави теме и садржи све релевантне елементе. По свом обиму, садржају, оригиналности резултата, начину њиховог представљања и интерпретацији, уз осврт на обимну и релевантну литературу, поднети текст има све одлике докторске дисертације. Кандидаткиња је на примерен начин представила истраживачку област у којој је радила и резултате до којих је дошла.

Комисија сматра да докторска дисертација Каролине Суњог по свом приступу и интерпретираним резултатима представља значајан допринос у познавању слатководних риба као биоиндикаторских организама. Поред наведеног, добијени резултати представљају основу за будућа мултидисциплинарна истраживања.

Комисија са посебним задовољством истиче да је кандидаткиња до сада, из резултата који представљају део докторске дисертације, публиковала 4 рада у истакнутим међународним часописима од чега 2 у категорији M21, 1 у категорији M22 и 1 у категорији M23.

На основу свега изложеног, комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати позитиван Извештај и одобри јавну одбрану ове докторске дисертације.

Београд, 29.03.2016.

Комисија:

др Бранка Вуковић-Гачић, ментор, редовни професор,
Биолошки факултет, Универзитет у Београду

др Мирјана Ленхардт, ментор, научни саветник,
Институт за мултидисциплинарна истраживања,
Универзитет у Београду

др Зоран Гачић, научни саветник,
Институт за мултидисциплинарна истраживања,
Универзитет у Београду

др Стоимир Коларевић, научни сарадник,
Биолошки факултет, Универзитет у Београду