

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На Х редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 06.09.2019. године, прихваћен је извештај ментора, др Милице Љаљевић Грбић и др Јелене Вукојевић, о урађеној докторској дисертацији **Жељка Д. Савковића**, истраживача сарадника Универзитета у Београду, Биолошког факултета, под насловом „**Диверзитет и сезонска дистрибуција микромицета у ваздуху просторија за конзервацију објеката културне баштине**”, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Милица Љаљевић Грбић, ванредни професор, Универзитет у Београду, Биолошки факултет, др Јелена Вукојевић, редовни професор, Универзитет у Београду, Биолошки факултет, др Жарко Ивановић, виши научни сарадник, Институт за заштиту биља и животну средину, др Ана Џамић, ванредни професор, Универзитет у Београду, Биолошки факултет, и др Милош Ступар, научни сарадник, Универзитет у Београду, Биолошки факултет.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Већу подноси следећи:

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација **Жељка Д. Савковића**, под насловом „**Диверзитет и сезонска дистрибуција микромицета у ваздуху просторија за конзервацију објеката културне баштине**”, је написана на укупно 260 страна компјутерски обрађеног текста. Пагинирани текст (243 стране) садржи Биографију (1 страна) и 10 поглавља докторске дисертације (242 стране): Увод (30 страна), Предмет истраживања (2 стране), Циљеви рада (1 страна), Материјал и методе (29 страна), Резултати (49 страна), Дискусија (30 страна), Закључци (2 стране), Литература (36 страна), Прилог 1 (61 страна) и Прилог 2 (2 стране). Дисертација садржи 21 табелу (2 у поглављу Увод, 5 у поглављу Материјал и методе, 13 у поглављу Резултати и 1 у поглављу Дискусија) и 107 слика (5 у поглављу Увод, 1 у поглављу Предмет истраживања, 7 у поглављу Материјал и Методе, 31 у поглављу Резултати, 2 у поглављу Дискусија, 60 у поглављу Прилог 1 и 1 у поглављу Прилог 2). Поглавље Литература садржи 333 библиографске јединице које се адекватно наводе у тексту. Непагинирани текст (17 страна) обухвата насловне стране и сажетке на српском и енглеском језику, листу ментора и чланова комисије, захвалницу, садржај и прилоге (изјава о ауторству, изјава о истовестности штампане и електронске верзије докторског рада и изјава о коришћењу).

Анализа докторске дисертације:

У докторској дисертацији кандидат **Жељко Савковић** је проучавао диверзитет микромицета и мониторинг концентрације вијабилних фунгалних пропагула у ваздуху 20 одабраних просторија за конзервацију предмета културне баштине и ваздуха непосредне околине, током 4 сезоне периода 2014/2015 као и потенцијал детериорације добијених изолата и њихову осетљивост на комерцијалне и природне агенсе. Додатно, проучавао је и диверзитет микромицета и потенцијал детериорације аутохтоних изолата са камене стеле која је током периода узорковања ваздуха била на конзерваторском третману.

Поглавље **УВОД** се састоји из шест потпоглавља са детаљним приказом истраживања која подржавају проблематику докторске дисертације. У првом потпоглављу објашњен је предмет проучавања и значај аеробиологије као мултидисциплинарне науке. Друго потпоглавље објашњава предмет проучавања аеромикологије и говори о значају фунгалних пропагула као важне компоненте биоаеросола. У трећем потпоглављу, кандидат говори о главним факторима који утичу на заступљеност фунгалних пропагула у ваздуху отворених и затворених простора. Утицај пропагула микромицета на људско здравље је дато у четвртом потпоглављу које се састоји из 5 целина у којима је детаљно описана улога фунгалних пропагула као изазивача алергијских реакција (прва целина), респираторних инфекција (друга целина) и микотоксикоза (трећа целина). У истом потпоглављу је указано на значај Синдрома болесне зграде (четврта целина) и дат је преглед здравствених стандарда, у свету, у контексту фунгалне контаминације затворених простора (пета целина). Улога гљива у детериорацији објеката културне баштине је концизно описана у петом потпоглављу које се састоји из 3 целине. Кандидат је описао главне механизме биодетериорације који су последица механичког (прва целина) и хемијског дејства гљива на супстрат (друга целина). Посебан акценат је дат на хемијском дејству и описани су процеси продукције киселина, ензима и пигмената. У поменутом потпоглављу су посебно описане гљиве колонизатори каменог супстрата и изложени су главни механизми биодетериорације камена од стране микромицета (трећа целина). У шестом потпоглављу је описан значај примене антифунгалних агенаса у процесу конзервације и рестаурације објеката културне баштине са посебним акцентом на биоциде биолошког (пре свега биљног) порекла. Такође, кандидат даје преглед савремених истраживања биљних екстраката и етарских уља у контексту примене на предметима и објектима културне баштине.

Поглавље **ПРЕДМЕТ ИСТРАЖИВАЊА** садржи опис просторија за конзервацију у којима је вршено узорковање ваздуха. Такође, дат је опис испитиване римске камене стеле која је током периода узорковања била на конзерваторском третману.

У поглављу **ЦИЉЕВИ РАДА** постављено је 6 циљева истраживања који се односе на изолацију, идентификацију микромицета у узорцима као и праћење сезонске динамике концентрације вијабилних спора гљива у узоркованом ваздуху. Један од циљева је и формирање колекције изолата гљива, из ваздуха и са испитиваног каменог споменика како би се извршило тестирање потенцијалних биодетериорационих способности одабраних изолата као и тестирање антифунгалне активности агенаса биолошког порекла и комерцијалних биоцида, применљивих у конзервацији, на одабраним изолатима *in vitro*. Завршни циљ рада је био анализа одабраних агенаса биолошког порекла *in silico*.

Поглавље **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** садржи два потпоглавља. У првом потпоглављу, које чине 4 целине, дат је преглед миколошких подлога коришћених за изолацију микромицета и током експеримената *in vitro* (прва целина), коришћених боја и реагенаса (друга целина), начин припреме суспензије конидија (трећа целина) и коришћених антифунгалних агенаса (четврта целина). У другом потпоглављу, које се састоји из 12 целина, описане су коришћене методе. У првој и другој целини је описано мерење микроклиматских параметара, тј. температуре и релативне влажности ваздуха, као и само узорковање ваздуха у испитиваним просторијама и одређивање концентрације присутних вијабилних фунгалних спора. У трећој, четвртој, петој и шестој целини су описане методе анализе камене стеле, укључујући петрографске анализе, одређивање индекса детериорације, оптичке *in situ* микроскопије њене површине као и узорковања биофилма. Наредна целина детаљно описује начин идентификације микромицета из

ваздуха и са испитиваног објекта, традиционалним миколошким и савременим молекуларним методама. У осмој целини су описани коришћени тестови за анализу биодетериорације *in vitro*, и то: продукција киселих и базних метаболита, екстрацелуларних пигмената, целулаза и протеаза, растварања калцијум карбоната, формирања секундарних микогених минерала, способност раста на 37 °С и хемолитичка активност. Девета целина садржи опис техника скенинг електронске микроскопије са енергетско дисперзивном спектроскопијом X зрака (SEM-EDS) и енергетске дифракције праха (XRPD) које су коришћене за карактеризацију секундарних микогених минерала формираних у култури тестираних изолата. Десета целина садржи опис анализе састава одабраних етарских уља применом метода гасне хроматографије (GC) и гасне хроматографије са спектрометријом маса (GC/MS). У једанаестој целини је описано тестирање антифунгалне активности одабраних биоцида и дат је протокол микродилуционе, агар дилуционе и методе ароматичне коморе. У овој целини, кандидат је осмислио и применио нову формулу за квантификацију антифунгалног потенцијала биоцида. Поменута целина садржи и протокол методе молекуларног докинга, савремене *in silico* методе за испитивање интеракције између одређене компоненте биоцида и циљаног ензима гљиве. На крају је представљен опис коришћених статистичких анализа за обраду података добијених применом квантитативних метода.

У поглављу **РЕЗУЛТАТИ**, подељеном на осам потпоглавља, кандидат је систематично представио резултате истраживања. У првом потпоглављу су представљени подаци мониторинга микроклиматских параметара, температуре и релативне влажности ваздуха, у испитиваним просторијама током периода узорковања. У другом потпоглављу, представљени су резултати и сумирани подаци о диверзитету и сезонској дистрибуцији вијабилних спора у ваздуху испитиваних просторија, представљени графички (4) и табеларно (2). У трећем потпоглављу, кандидат је представио резултате биодетериорационог потенцијала одабраних аерогених изолата, врста родова *Aspergillus*, *Penicillium* и *Talaromyces*: способност растварања калцијум карбоната, продукција киселина, пигмената, протеаза и целулаза као и способност формирања секундарних микогених минерала (оксалата и карбоната), раст на 37 °С и хемолитичку активност. Добијени резултати су представљени табеларно (4), графички (1) и документовани фотографијама (6) и микрографијама (3). У четвртном, петом и шестом потпоглављу, изнети су подаци петрографске анализе испитиване камене стеле, степена биодетериорације и биолошке колонизације њене површине, затим диверзитет документованих и изолованих микромицета као и капацитет биодетериорације одабраних аутохтоних изолата *in vitro*: продукције киселина/база и пигмената, солубилизације калцијум карбоната и биоминерализације. Резултати су представљени табеларно (3), графички (1) и микрографијама (6). На крају, резултати анализе састава одабраних етарских уља, као и подаци о антифунгалном потенцијалу свих тестираних етарских уља, метил салицилата и бензалконијум х лорида су приказани у седмом и осмом потпоглављу. Додатно, сумирани су резултати *in silico* интеракција главних конституената етарских уља и метил салицилата са фунгалним CYP51 протеином. Последња два потпоглавља обухватају 2 табеле, 9 графика и 1 фотографију.

У поглављу **ДИСКУСИЈА**, подељеном на пет потпоглавља, кандидат је критички дискутовао добијене резултате у односу на најновије литературне податке. У првом потпоглављу, кандидат је дискутовао забележену дистрибуцију и диверзитет фунгалних спора у ваздуху испитиваних просторија и о утицају абиотичких и биотичких фактора на концентрацију фунгалног биоаеросола током сезона. Нагалашена је веома висока концентрација вијабилних пропагула гљива у ваздуху одређених истраживаних

просторија, пре свега оних смештених у приземљу, највероватније као последица повећане релативне влажности ваздуха, људске активности и дотока спољашњег ваздуха. Поред тога, забележен је велики диверзитет аерогених гљива и наглашена употреба комбинације традиционалних миколошких и молекуларних метода у сврху адекватне идентификације аерогених изолата. У другом потпоглављу, дискутован је биодетерирациони потенцијал одабраних аерогених изолата и истакнута важност добијених резултата за спровођење конзервације. Наводи се да су бројни тестирани изолати испољили позитивну реакцију у биодетерирационим тестовима *in vitro*, па су стога изазивачи естетских и структурних промена на објектима и предметима културне баштине. У трећем потпоглављу је детаљно дискутован потенцијални утицај пропагула микромицета на здравље људи. Истакнуто је да је у ваздуху испитиваних просторија забележена не само висока концентрација укупних фунгалних пропагула већ и присуство бројних алергених, патогених и микотоксикогених врста. Кандидат је сумирао и табеларно приказао списак изолованих врста у контексту потенцијалног утицаја на људско здравље што је поткрепљено великим бројем публикованих радова у овој области. Утицај на здравље је такође дискутован и у контексту хемолитичке активности одређених изолата као и способности раста на 37 °C. У наредном потпоглављу, анализиран је диверзитет и биодетерирациони потенцијал микромицета на испитиваном каменом споменику. Додатно, дискутовани су резултати физиолошког потенцијала аутохтоних изолата да врше биодетерирацију камена са посебним освртом на механизам формирања секундарних микогених минерала. У последњем потпоглављу, кандидат дискутује резултате антифунгалне активности одабраних биоцида на аерогене изолате *Aspergillus* и *Penicillium* врста и истиче се да је најснажнија активност забележена за бензалконијум хлорид и етарско уље *Cinnamomum zeylanicum*. Забележено је да су резултати примењене *in silico* методе молекуларног докинга у доброј корелацији са јачином антифунгалне активности испитиваних етарских уља и метил салицилата на основу чега је предложен могући механизам антифунгалне активности. На крају, сугерисана је и имплементација наведених супстанци биолошког порекла у области конзервације предмета и објеката културне баштине.

У поглављу **ЗАКЉУЧЦИ** кандидат изводи закључке на основу чињеница изложених у потпоглављима резултата а у складу са постављеним циљевима дисертације. Наиме, кандидат констатује да су вредности концентрације спора у испитиваним просторијама за конзервацију биле релативно високе током целог периода узорковања, нарочито током пролећног и летњег периода. Истиче се да су у одређеним просторијама вредности концентрације спора превазишле мерљиве вредности, посебно у просторијама са високим вредностима релативне влажности смештеним у приземљу зграде. Наводи се да је у ваздуху анализираних просторија забележен висок диверзитет фунгалних таксона са највећом специјском разноврсношћу родова *Aspergillus* и *Penicillium*. С друге стране, истакнуто је да су пропагуле *Cladosporium* и *Penicillium* врста биле најзаступљеније у ваздуху током све четири сезоне. Закључено је да су одређени аерогени изолати *Aspergillus*, *Penicillium* и *Talaromyces* врста показали различит биодетериоративни потенцијал продукције екстрацелуларних ензима, киселина и пигмената, формирања секундарних микогених минерала оксалата и карбоната као и хемолIZE и раста на 37 °C што је индикација њихове патогености. Поред тога, закључено се да је из ваздуха испитиваних просторија изолован велики број алергених, патогених и токсикогених гљива. С друге стране, кандидат закључује да је на испитиваној каменој стели забележен висок ниво биолошке колонизације и детериорације каменог супстрата што одговара релативно високој вредности индекса биодетериорације. Такође се наводи да су аутохтони изолати са овог споменика показали способност продукције киселих и базних метаболита,

пигментата, солубилизације кречњака и формирања секундарних микогених минерала. На крају, кандидат закључује да је најјача антифунгална активност на *Aspergillus* и *Penicillium* врсте забележена за бензалконијум хлорид и етарско уље *Cinnamomum zeylanicum* као и да су резултати молекуларног докинга тестираних супстанци у корелацији са јачином антифунгалне активности испитиваних етарских уља и метил салицилата.

Поглавље **ЛИТЕРАТУРА** садржи 333 библиографске јединице из интернационалних и домаћих извора. Литературни извори су адекватно одабрани, правилно и на одговарајућим местима цитирани у докторској дисертацији.

Поглавље **ПРИЛОГ 1** садржи 60 табли слика одабраних аутохтоних фунгалних изолата из ваздуха и са камене стеле. На свакој табли су приказане слике колоније на одабраним миколошким подлогама и микрографије репродуктивних структура карактеристичних за дату врсту.

Поглавље **ПРИЛОГ 2** садржи дендрограм који приказује филогенетске односе врста аерогених изолата добијеног на основу секвенци *ITS* региона.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Savković, Ž.**, Unković, N., Stupar, M., Franković, M., Jovanović, M., Erić, S., Šarić, K., Stanković, S., Dimkić, I., Vukojević, J., Ljaljević Grbić, M. (2016): Diversity and biodeteriorative potential of fungal dwellers on ancient stone stela. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 115: 212-223. **M22**
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.08.027>
Линк: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830516303195>
2. **Savković, Ž.**, Stupar, M., Unković, N., Ivanović, Ž., Blagojević, J., Vukojević, J., Ljaljević Grbić M. (2019): *In vitro* biodegradation potential of airborne *Aspergilli* and *Penicillia*. *The Science of Nature*, 106(3-4): 8. **M22**
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00114-019-1603-3>
Линк: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00114-019-1603-3>

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Savković, Ž.**, Unković, N., Stupar, M., Vukojević, J., Nedeljković, T., Ljaljević Grbić, M. (2016): Presence of toxigenic and pathogenic fungal spores in indoor air of Central Institute for Conservation in Belgrade. *5th Congress of ecologists of the republic of Macedonia with international participation. Abstract book*. p.188. Ohrid, Macedonia, 19-22.10. **M34**
2. **Savković, Ž.**, Stupar, M., Unković, N., Franković, M., Nedeljković, T., Maksimović, D., Davidović Gnatović, D., Jovanović, M., Vukojević, J., Ljaljević Grbić, M. (2015): *In situ* microscopy in cultural heritage deterioration: Case study of Ancient Roman stele. *6th Balkan Botanical Congress. Abstract Book*. p.108. Rijeka, Croatia, 14-18.09. **M34**

3. **Savkovic, Ž.**, Džamić, A., Stupar, M., Unković, N., Vukojević, J., Ljaljević Grbić, M. (2018): Antifungal activity of *Eugenia caryophyllata* Thun., *Cinnamomum zeylanicum* Blume and *Carum carvi* L. essential oils using resazurin based microdilution method. *Unifood conference. Programme and Book of Abstracts*. BKHP66/FQSP66. Belgrade, Serbia, 5-6.11. **M34**

Извештај ментора о провери оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата **Жељка Д. Савковића**, број индекса **Б3022/2013**, под насловом „**Диверзитет и сезонска дистрибуција микромицета у ваздуху просторија за конзервацију објеката културне баштине**“, подвргнута је електронској провери обима и садржине подударања текста са текстовима који су Универзитетској библиотеци „Светозар Марковић“ доступни за поређење. Извештај који садржи резултате провере оригиналности ментор је добио дана **28.08.2019.** године.

Резултати електронске провере ове докторске дисертације показују да **индекс подударности износи 9%**. Увидом у Извештај утврђено је да су готово сва уочена појединачна подударања у опсегу мањем од 1% и највећим делом се односе на стандардно присутне делове докторских дисертација (називе микромицета, спискове микромицета са шифрма из микотеке, рецептуре хранљивих подлога, методолошке описе, скраћенице, лична имена, библиографске податаке о коришћеној литератури, садржаје табела из објављених радова аутора дисертације, навођење назива институција, звања чланова комисије, називе поглавља и слично) и последица су претходно публикованих резултата истраживања проистеклих из докторских дисертација из исте научне области. Одређени делови текста код којих је утврђено подударање представљају често коришћене исказе (нпр. „...резултати су у сагласности...“).

Када се све изнето узме у обзир, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата **Жељка Д. Савковића**, под насловом „**Диверзитет и сезонска дистрибуција микромицета у ваздуху просторија за конзервацију објеката културне баштине**“, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Мишљење и предлог Комисије:

На основу изложеног, Комисија сматра да докторска дисертација кандидата **Жељка Д. Савковића** под насловом „**Диверзитет и сезонска дистрибуција микромицета у ваздуху просторија за конзервацију објеката културне баштине**“ представља оригиналну научну студију, урађену по свим критеријумима научно-истраживачког рада. Дисертација представља опсежну студију микобиоте ваздуха просторија за конзервацију објеката и предмета културне баштине са значајним доприносом за област аеромикологије. Ова докторска дисертација је допринос и проучавању диверзитета микрогљива уопште, а посебно њиховог диверзитета у ваздуху о чему, код нас, нема публикованих података. Аеромиколошке студије су значајане и са аспекта људског здравља имајући у виду изоловане алергене, патогене и микотоксикогене врсте. Велики допринос представља и миколошка студија камене стеле која је током периода узорковања била на процесу рестаурације с обзиром да је утврђен висок степен биолошке колонизације и детериорације супстрата. Посебан допринос је доказано антифунгално дејство испитиваних етарских уља и метил салицилата што сугерише потенцијалну имплементацију поменутих супстанци биолошког порекла у области конзервације предмета и објеката културне баштине, као битног сегмента просперитета шире друштвене заједнице.

Имајући у виду све наведено, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију кандидата **Жељка Д. Савковића** под насловом „**Диверзитет и сезонска дистрибуција микромицета у ваздуху просторија за конзервацију објеката културне баштине**“ и са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да **прихвати Извештај и одобри јавну одбрану** ове докторске дисертације.

У Београду, 02.09.2019.

КОМИСИЈА:

др Милица Љаљевић Грбић, ванредни професор
Универзитет у Београду, Биолошки факултет

др Јелена Вукојевић, редовни професор
Универзитет у Београду, Биолошки факултет

др Жарко Ивановић, виши научни сарадник
Институт за заштиту биља и животну средину

др Ана Цамић, ванредни професор
Универзитет у Београду, Биолошки факултет

др Милош Ступар, виши научни сарадник
Универзитет у Београду, Биолошки факултет