

# УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

## ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

### ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ КАНДИДАТА СНЕЖАНЕ ОРЧИЋ

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b> 1. Датум и орган који је именовано комисију На електронској седници одржаној 20.07.2020. године, Наставно-научно веће Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду је именovalo Комисију за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата Снежане Орчић.  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:  <b>др Јелена Пураћ, редовни професор</b> , ужа научна област Молекуларна биологија, датум избора: 01.07.2020. године, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет; председник комисије <b>др Данијела Којић, редовни професор</b> , ужа научна област Биохемија, датум избора: 01.07.2020. године, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет; члан - ментор <b>др Нада Плавша, редовни професор</b> , ужа научна област Болести животиња и хигијена анималних производа, датум избора: 12.07.2018. године, Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет; члан <b>др Душко Благојевић, научни саветник</b> , ужа научна област Физиологија, датум избора: 20.07.2007. године, Универзитет у Београду, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић”, члан
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b> 1. Име, име једног родитеља, презиме: <b>Снежана, Милан, Орчић</b>  2. Датум рођења, општина, држава: 03.08.1982., Нови Сад, Република Србија  3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Природно-математички факултет Мастер академске студије биологије, модул Функционална биологија Дипломирани биолог – мастер  4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2012., 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: –
<b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b> Биохемијски и физиолошки параметри стања медоносне пчеле ( <i>Apis mellifera</i> L.) током летњег и зимског периода на стаништима са различитим антропогеним утицајем

#### IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

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

Докторска дисертација кандидата Снежане Орчић је написана на српском језику, латиничним писмом, са кључном документацијском информацијом на српском и енглеском језику.

Дисертација садржи 269 страна, А4 формата. Текст је написан на 246 страна и подељен на 9 поглавља: Увод (2 стране), Општи део (42 стране), Циљеви истраживања (2 стране), Материјал и методе (22 стране), Резултати (72 стране), Дискусија (30 страна), Закључци (7 страна), Литература (30 страна) и Прилози (39 страна). Дисертација садржи 20 слика, 64 графикона, 16 табела и 415 литературних навода. На почетку дисертације, без нумерације, налази се Наслов рада, Кључна документацијска информација, Захвалница, Списак скраћеница и Садржај. На крају дисертације је дата Биографија кандидата.

#### V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

**Наслов** докторске дисертације је јасно дефинисан, одражава суштину испитиване проблематике и директно указује на циљ испитивања.

У поглављу **Увод** се укратко описује предмет и циљ истраживања докторске дисертације. Указано је на значај медоносне пчеле, као и на проблем пада броја пчелињих колонија, те и на потребу за разумевање узрока и процену ризика који леже у основи овог комплексног проблема. Комисија сматра да је кроз Увод кандидат јасно упознао читаоца са проблематиком истраживања и његовим значајем.

**Општи део** је подељен на три потпоглавља. У првом потпоглављу је описана таксономија, биологија, као и улога медоносне пчеле у екосистему. У другом потпоглављу су описани биохемијски и физиолошки параметри којима се описује стање медоносне пчеле. У овом делу акценат је стављен на стање оксидативног стреса и антиоксидативни систем заштите, затим имунитет и имунокомпетенцију медоносне пчеле, као и метаболомички приступ анализе биолошког система. На крају овог поглавља, детаљним прегледом савремених литературних извора, како научних публикација тако и регулаторних докумената, представљен је значај истраживања медоносне пчеле са акцентом на угроженост и заштиту врсте, као и улогу пчела као биондикатора у процени степена загађености животне средине. Анализом поглавља Комисија констатује да је поглавље Општи део написано систематично, јасно и да су успешно представљена досадашња сазнања о проблематици докторске дисертације.

У поглављу **Циљеви истраживања** су јасно дефинисане три фазе истраживања и дефинисан циљ сваке од фаза. Као циљ прве фазе, постављено је извођење акутних лабораторијских тестова излагања пчела сублеталним дозама пестицида, тиаклоприда и клотианидина, како би се утврдили параметри који би били адекватни као маркери за праћење биохемијског одговора медоносне пчеле на присуство пестицида. Циљ друге фазе је била анализа колонија медоносне пчеле са различитих локалитета на подручју АП Војводине, са применом стационарног и миграторног типа пчеларења, током летњег и зимског периода, да би се процениле евентуалне разлике у биохемијском одговору медоносне пчеле у зависности од старости пчела, сезоне године и типа пчелињака. У трећој фази истраживања, циљ је био праћење стања медоносне пчеле кроз анализу колонија медоносне пчеле, као и пчелиње хране, из стационарних пчелињих заједница током летњег активног периода, као и почетком и крајем зимског периода мировања, са три локалитета у Р. Србији са различитим степеном урбанизације и индустријализације: Београд као урбано, Сусек као рурално и Зајача као индустријско подручје. Комисија је сагласна да је кандидат јасно представио циљеве истраживања и да су они у складу са циљевима наведеним приликом пријаве докторске дисертације.

Поглавље **Материјал и методе** садржи три потпоглавља. У првом потпоглављу је детаљно описана поставка експеримената и формирање узорака за сваку фазу посебно. У другом потпоглављу је описана припрема узорака хомогената целих пчела и хемолимфе пчела, као и пчелиње хране, а затим лабораторијске анализе коришћене за одређивање:

- релативне генске експресије,
- активности ацетилхолинестеразе,
- активности антиоксидативних ензима и редокс статуса,
- активности ензима повезаних са имуним одговором,
- присуства микроспоридија рода *Nosema* и крпеља *Varroa destructor*
- полена суспендованог у меду - мелисопалинолошка анализа,
- концентрације метала у пчелама и пчелињим производима,
- састава неполарне фракције липида и угљоводоника пчела,
- метаболомичког профила хемолимфе пчела.

Комисија оцењује да су Материјал и методе адекватни и савремени. Кандидат је експерименталне поступке приказао систематично и јасно, чиме је омогућена поновљивост анализа.

Поглавље **Резултати** је подељено на три потпоглавља која прате фазе истраживања наведене у поглављу Циљеви истраживања. Резултати истраживања су приказани прегледно, са великим бројем табеларних и графичких приказа, као и одговарајућих слика, праћених адекватним текстуалним објашњењима. У првом потпоглављу су приказани резултати лабораторијских акутних тестова токсичности пестицида тиаклоприда и клотианидина, који указују на повећану активност ацетилхолинестеразе, на измене у активности главних антиоксидативних ензима (супероксид дисмутазе, каталазе и глутатион *S*-трансферазе) и редокс статуса у ћелији (редукованог глутатиона, сулфхидрилних група протеина и малондиалдехида), као и на имуносупресију на нивоу индивидуалног имуног одговора. У другом потпоглављу представљени су резултати анализе биохемијских и физиолошких параметара (активности ацетилхолинестеразе, антиоксидативних ензима, концентрације малондиалдехида, као и мелисопалинолошке анализе) пчелињих заједница током летњег и зимског периода, из стационарних и миграторних пчелињака, са различитих локалитета на подручју АП Војводине, који су указали на значајне разлике у биохемијском одговору медоносне пчеле у зависности од старости пчела, сезоне и типа пчелињака. На основу резултата прве и друге фазе истраживања извршен је одабир узорака медоносне пчеле, као и избор биохемијских и физиолошких параметара за анализу у оквиру треће фазе истраживања, која је представљена у виду трећег потпоглавља Резултата. Праћењем активности и релативне експресије гена антиоксидативних ензима, нивоа оксидативног стреса, активности ацетилхолинестеразе, имуног статуса пчела, затим маснокиселинског и угљоводоничног састава масног тела, метаболомичког профила хемолимфе пчела, као и садржаја метала у пчелама и пчелињим производима, забележене су значајне разлике у зависности од сезоне године, као и анализираних локалитета са различитим антропогеним утицајем. Зимске пчеле крајем зимског периода мировања, карактерише виши ниво антиоксидативне заштите, удружен са високим степеном оксидативних оштећења, затим боља имунокомпетенција, као и ниске енергетске резерве у масном телу. Сезонским повећањем температуре током године повећава се и садржај засићених, док се смањује удео незасићених масних киселина, где се олеинска 18:1(9) киселина издваја као доминантна компонента у укупном садржају масних киселина масног тела пчела са све три локације, током сва три периода. Нижи ниво укупних угљоводоника је још једна физиолошка карактеристика зимских пчела. Такође, запажене су промене и у неуротрансмисији холинергичког типа током сезоне, са вишим активностима ацетилхолинестеразе код пчела крајем зиме и током лета. Метаболомичком анализом хемолимфе пчела је идентификовано 125 метаболита, укључених у 36 метаболичких путева, где се као биомаркери од значаја за разликовање летњих и зимских пчела издвајају метаболити у метаболизму глицеролипида и аминокиселине глицин, цистеин, глутамин, фенилаланин, пролин и лизин. Поређењем добијених резултата између различитих локалитета, пчеле из Београда се издвајају са нижим нивоом оксидативног стреса, нижим активностима ацетилхолинестеразе, као и фенол оксидазе и глукоза оксидазе, кључних ензима у имуноном одговору пчела. Пчеле из Сусека су се издвојиле са највећом масом масног тела, што указује на добре нутритивне и енергетске резерве у пчелама током зиме и лета, док се Београд издваја са значајно вишим уделом незасићених

масних киселина у масном телу пчела. Такође су забележене разлике у релативној заступљености *n*-алкана у пчелама са различитих локалитета, те је у Београду најзаступљенији нонакозан (C<sub>29</sub>), док је хептакозан (C<sub>27</sub>) најзаступљенији у узорцима пчела из Сусека и Зајаче. Анализом садржаја метала у пчелама, перги и меду, запажа се да сваку средину карактерише специфичан профил загађења, као и да је у меду знатно нижа концентрација свих анализираних метала. Анализом поглавља Комисија сматра да су резултати истраживања адекватно анализирани и прегледно приказани.

У поглављу **Дискусија** дата је анализа и интерпретација резултата. Дискусија је подељена у три потпоглавља како би пратила фазе истраживања и приказане резултате. Најпре су анализирани резултати акутних тестова токсичности неоникотиноидних пестицида. Краткорочно излагање пчела сублеталним дозама тиаклоприда и клотианидина је нарушило неуротрансмисију у синапсама холинергичког типа вероватно због везивања неоникотиноидних пестицида за ацетилхолинске рецепторе. Уочене су промене у активности главних антиоксидативних ензима и редокс статусу, када је забележено повећање концентрације тиола у пчелама који подлежу редокс реакцијама. Међутим, концентрација малондиалдехида је такође била повећана код третираних пчела, што је указало на оксидативна оштећења липидних структура, те је закључено да излагање неоникотиноидним пестицидима индукује оксидативни стрес. Кроз анализу активности фенол оксидазе и њеног прекурсора профенол оксидазе, забележена је супресија хуморалног имуног одговора третираних пчела. У другом делу дискусије анализиран је утицај старости пчела, сезоне и типа пчелињака на биохемијске и физиолошке параметре стања медоносне пчеле. Наводи се да старост пчела може утицати на промене у активностима антиоксидативних ензима, те при анализи стања медоносне пчеле треба узети у обзир старост пчела да би узорак био репрезентативан. Сезонске промене током године су такође праћене разликама у активности ацетилхолинестеразе, ензима антиоксидативне заштите и маркера липидне пероксидације код пчела радилица. Генерално ниже активности антиоксидативних ензима код зимских пчела су указале на нижи ниво антиоксидативне заштите, што је може повезати са нижом продукцијом реактивних честица кисеоника и азота током зиме. То су потврдили и нижи нивои малондиалдехида код зимских пчела, указујући на нижи ниво оксидативних оштећења код пчела током зиме. Забележене су и знатне разлике у биохемијском одговору пчела и у зависности од типа пчелињака, тј. да ли су пчеле гајене у стационарном или миграторном пчелињаку. Међутим значајне разлике су забележене у вредностима анализираних параметара и између два миграторна пчелињака, што је указало на постојање других доминантних фактора, најчешће исхране, која може утицати на ниво оксидативног стреса код пчела. У трећем делу дискусије анализиран је утицај сезонских промена и фактора средине са различитим антропогеним утицајем на биохемијске и физиолошке параметре стања старијих пчела радилица, узоркованих са стационарних пчелињака почетком и крајем зимског периода мировања, као и током летњег активног периода. На основу добијених резултата опсежне анализе биохемијских и физиолошких параметара медоносне пчеле и увидом у одговарајућу литературу, кандидат кроз дискусију добијених резултата логично повезује специфичности биолошког одговора медоносне пчеле са ефектима сезонских промена, као и са присутним антропогеним утицајима на анализираним локалитетима. Резултати мерења експресије и активности главних антиоксидативних ензима су објашњени и упоређени са резултатима сличних истраживања, те је закључено да улагање у експресију гена антиоксидативних ензима, крајем животног века зимских пчела, није стратегија за преживљавање пчелиње колоније, као и да летње пчеле имају виши ниво антиоксидативне заштите, што је у складу са резултатима претходне фазе истраживања. Највиши нивои оксидативног оштећења, забележени код пчела крајем зимског периода мировања, могу се објаснити оксидативном теоријом старења, као и повећаним активностима пчела ван кошнице. Даље су објашњене промене у неуротрансмисији холинергичког типа, као и имуном одговору медоносне пчеле. Анализирани су резултати количине и састава масног тела и тиме објашњене промене енергетских резерви овог кључног органа у метаболизму нутријената и енергије пчела. Анализа садржаја укупних угљоводоника пчела је такође указала на постојање промена током године, као последица разлика у понашању и физиологији зимских и летњих пчела. Метаболомичком анализом хемолимфе медоносне пчеле дат је оригинални допринос досадашњим ентометаболомичким студијама. Формирана је библиотека спектра детектованих једињења у метаболу хемолимфе пчела и идентификовано је 125 метаболита, од којих су анализом метаболичких путева издвојени биомаркери од значаја за разликовање летњих и

зимских пчела. Генерално, резултати су потврдили да сезонске промене током године, као што су температура и доступност хране, значајно утичу како на активност пчелињих заједница, тако и на промене у биохемијским и физиолошким параметрима пчела. Да би се размотрили ефекти средине тј. локалитета са различитим антропогеним утицајем на анализирани биохемијске и физиолошке параметре пчела, кандидат је међусобно поредио и дискутовао добијене резултате из Београда, Сусека и Зајаче, током сваког периода тј. почетком и крајем зиме, као и током лета, када је уочен значајан утицај локалних фактора средине специфичних за урбану, руралну и индустријску средину. Уочене разлике се генерално могу повезати са мултиплим стресогеним факторима карактеристичним за анализирани локалитете. Истакнут је висок садржај олова у пчелама из Зајаче, док интензивна примена неоникотиноидних пестицида на пољопривредним монокултурама које окружују пчелињак у Сусеку, могу објаснити више нивое оксидативног стреса, као и више активности ацетилхолинестеразе у пчелама из индустријског и руралног региона. Комисија сматра да је дискусија систематично и опсежно написана. Резултати су детаљно анализирани и продискутовани заједно са актуелним литературним подацима.

У оквиру поглавља **Закључци**, јасно и систематично су приказани закључци који директно проистичу из резултата истраживања и њихове дискусије. На основу наведених закључака комисија сматра да су остварени циљеви докторске дисертације.

**Литература** цитирана у оквиру докторске дисертације (415 литературних навода) је савремена, адекватно одабрана и указује на значај и актуелност остварених истраживања. Библиографија је навођена на одговарајући начин а избор референци је примерен тематици која је предмет ове дисертације.

У поглављу **Прилози** су дати табеларни прикази оригиналних резултата добијених током све три фазе истраживања, као и библиотека спектра детектованих једињења у метаболу хемолимфе медоносне пчеле.

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**

Резултати ове докторске дисертације су до сада објављени у два рада у часописима међународног значаја, једном саопштењу на међународном скупу штампаном у целини и једном саопштењу на националном скупу штампаном у изводу.

### Категорија M21a, ИФ = 4,333

Kojić K.K., Purać J.S., Nikolić T.V., Orčić S.M., Vujanović D., Ilijević K., Vukašinić E.L., Blagojević D.B. (2019) Oxidative stress and the activity of antioxidative defense enzymes in overwintering honey bees. *Entomologia Generalis*, Vol. 39(1): 33–44.

### Категорија M22, ИФ = 1,696

Orčić S., Nikolić T., Purać J., Šikoparija B., Blagojević D.P., Vukašinić E., Plavša N., Stevanović J., Kojić D. (2017) Seasonal variation in the activity of selected antioxidant enzymes and malondialdehyde level in worker honey bees. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 165: 120–128.

### Категорија M33

Batinić D., Nikolić T., Purać J., Orčić S., Teodorović I., Vukašinić E., Kojić D. (2017) Effects of migratory beekeeping management to honey bee (*Apis mellifera* L.) oxidative status. *Environmental protection of urban and suburban settlements: proceedings*, pp. 393 - 400, ISBN: 978-86-83177-52-3, Novi Sad, Serbia, September 27-29.

#### Категорија М64

Kojić D., Milovac S., Nikolić T., Blagojević D., Vukašinović E., Popović Ž., Purać J. (2016) Uticaj sezonskih i faktora sredine na aktivnost glutathion *S*-transferaze i acetilholinesteraze kod pčela (*Apis mellifera* L.). Knjiga apstrakata Naučne konferencije povodom 20 godina Prirodno-matematičkog fakulteta iz oblasti prirodnih i matematičkih nauka, pp. 15-16, PMF-Univerzitet Banja Luka, Banja Luka, 16-17 septembra.

### **VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА**

Резултати лабораторијских акутних тестова токсичности сублеталних концентрација пестицида су показали:

- да се нарушава неуротрансмисија, да долази до измена у активности антиоксидативних ензима и редокс статуса у хелији, као и до имunosупресије. Може се рећи да сет испитиваних биомаркера медоносне пчеле представља релевантне параметре за биомониторинг присуства инсектицида у животној средини, тј. процену стања медоносних пчела.

На основу анализе стања пчелињих заједница под утицајем различитих фактора, са циљем процене евентуалних разлика у биохемијском одговору медоносне пчеле у зависности од старости пчела, сезоне године и типа пчелињака, можемо закључити да:

- старост пчела може утицати на промене у активностима антиоксидативних ензима, узимајући у обзир повећање активности каталазе и глутатион *S*-трансферазе код старијих у односу на младе пчеле из стационарног пчелињака у Петроварадину. Стога, при анализи стања медоносне пчеле, треба узети у обзир старост пчела да би узорак био репрезентативан;
- сезонске промене током године, које условљавају смену летњих краткоживећих пчела са зимским дугоживећим пчелама, праћене су разликама у активности ацетилхолинестеразе, ензима антиоксидативне заштите и маркера липидне пероксидације код пчела радилица. Генерално ниже активности антиоксидативних ензима код зимских пчела указују на нижи ниво антиоксидативне заштите, што се може повезати са смањеном продукцијом РОС/РНС током зиме, тј. нижим нивоом оксидативног стреса. То потврђују и нижи нивои малондиалдехида код зимских пчела, указујући на нижи ниво оксидативних оштећења код пчела током зиме;
- разлике у гајењу пчела зависе од врсте пчелињака, тј. да ли су пчеле у стационарном или миграторном пчелињаку и праћене су променама у биохемијским и физиолошким параметрима тј. забележене су ниже активности ацетилхолинестеразе и повећана активност глутатион *S*-трансферазе у миграторним пчелињацима код летњих и зимских пчела. Међутим, значајне разлике се запајају у вредностима анализираних параметара и између два миграторна пчелињака, што указује на постојање других доминантних фактора, најчешће исхране, која може утицати на ниво оксидативног стреса код пчела;
- узимајући у обзир добијене резултате, који указују на постојање значајних разлика између пчелињих колонија у зависности од старости пчела, сезоне године и типа пчелињака, даље анализе су изведене на старијим пчелама радилицама, узоркованим са стационарних пчелињака током зимског и летњег периода.

Резултати анализе утицаја сезонских промена на стање пчелињих заједница у Београду, Сусеку и Зајачи, довели су до следећих сазнања:

- релативна експресија гена за најзначајније ензиме антиоксидативне заштите: гени Sod1 (Cu,ZnSOD), Sod2 (MnSOD), Cat, GstS1 за  $\sigma$ -класу GST, GstD1 за  $\delta$ -класу GST и GstMic1 за микрозомалну GST, праћена у пчелама током зимског периода, указује на снижену експресију наведених гена крајем зиме у односу на почетак зимског периода мировања за све три локације.
- активности антиоксидативних ензима су више крајем зиме, у односу на почетак периода мировања. Изузетак је нижа активност супероксид дисмутазе крајем зиме у хомогенатима пчела у Зајачи, вероватно као последица загађења средине оловом. Повећан ниво антиоксидативне

заштите код старијих зимских пчела има улогу у њиховој заштити од повећане продукције РОС и оксидативних оштећења, који су у вези са старењем. Поређењем летњег и зимског периода, активности ензима су више током лета, указујући на виши ниво антиоксидативне заштите код летњих пчела. Концентрација малондиалдехида у хомогенатима пчела је указала на највише нивое оксидативног оштећења крајем зимског периода мировања.

- запажене су промене у неуротрансмисији холинергичког типа током сезоне, са вишим активностима ацетилхолинестеразе код пчела крајем зиме и током лета, што можемо повезати са активностима пчела ван кошнице.
- имуни одговор медоносне пчеле, који је праћен током године, указује да се током онтогеније пчелâ повећава активност фенол оксидазе, кључног ензима у индивидуалном имуном одговору, те је активност ензима и/или проензима виша код старијих зимских пчела. Активност глукоза оксидазе у хемолимфи пчела, која је била виша током зиме у односу на лето, у Сусеку и Зајачи је указала је на виши ниво антисептичне заштите код зимских пчела, која доприноси превенцији заразе на нивоу групе, док у Београду није било промена у активности ензима током године.
- уочене су сезонске промене у количини масног тела, као кључног органа у метаболизму нутријената и енергије. Најмање количине масног тела су забележене крајем зиме у пчелама у Београду и Сусеку, значајно ниже у односу на летњи активни период, указујући на очекивано ниске енергетске резерве у старијим зимским пчелама, док количина масног тела у пчелама из Зајаче није значајно варирала у зависности од сезоне.
- састав масних киселина из триацилглицерола масног тела медоносне пчеле чини 14 масних киселина са 14 – 26 угљеникових атома, од којих су најзаступљеније палмитинска 16:0, олеинска 18:1(9) и  $\alpha$ -линоленска 18:3(9,12,15), чинећи око 80 % од укупног састава масних киселина у пчелама из Београда, Сусека и Зајаче. Олеинска 18:1(9) киселина представља доминантну компоненту у укупном садржају масних киселина у масном телу пчела са све три локације, током сваког периода.
- запажено је значајно повећање процентуалног удела засићених масних киселина у масном телу пчела крајем зиме и током лета у односу на почетак зиме тј. са сезонским већим температурама током године повећава се и садржај засићених масних киселина. Удео незасићених масних киселина у масном телу пчела током године је имао обрнут приказ у односу на засићене, тј. са сезонским смањењем температуре почетком зиме, значајно се повећава садржај незасићених масних киселина. Од укупног садржаја незасићених масних киселина, мононезасићене масне киселине су присутне у већем уделу од полинезасићених масних киселина током свих периода, а највећи удео мононезасићених масних киселина је забележен у пчелама почетком зиме. Полинезасићене масне киселине, заједно са засићеним, су највећим делом заступљене у пчелама крајем зиме и током лета.
- анализом профила угљоводоника у хомогенатима целих пчела, идентификована су четири дуголанчана угљоводоника тј. *n*-алкана са непарним бројем угљеникових атома: трикозан (C<sub>23</sub>), пентакозан (C<sub>25</sub>), хептакозан (C<sub>27</sub>) и нонакозан (C<sub>29</sub>). Најнижи садржај укупних угљоводоника је забележен почетком зиме, док се са сезонским повећањем температуре, крајем зиме и у активном периоду, садржај угљоводоника повећавао.
- метаболомичком анализом хемолимфе пчела детектовано је укупно 154 једињења, од којих је идентификовано 125 метаболита, укључених у 36 метаболитских путева. Као најзаступљенији метаболит у хемолимфи медоносне пчеле издвојила се трехалоза, праћена фруктозом и глукозом.
- као биомаркери тј. метаболити од значаја за разликовање летњих и зимских пчела издвојили су се глицерол и моноацилглицероли, глицерил-стеарат и глицерил-палмитат, у метаболизму глицеролипида, затим аминокиселине глицин, цистеин, глутамин, фенилаланин, пролин и лизин. Сви наведени метаболити, изузев глутамина, су заступљени са значајно вишим концентрацијама током лета у односу на крај зиме, што можемо повезати са разликама у доступности хране током године, која даље утиче на метаболизам триацилглицерола током лета, као и катаболизам протеина крајем зиме, када се аминокиселине користе као додатни извор енергије.

На основу резултата анализе стања пчелињих заједница под утицајем фактора средине са различитим антропогеним утицајем, могу се извести следећи закључци:

- Активност антиоксидативних ензима и степен липидне пероксидације, измерена у хомогенатима и хемолимфи пчела, указала је на више нивое оксидативног стреса у Сусеку и Зајачи у односу на Београд.
- Значајно виша активност ацетилхолинестеразе, забележена је у пчелама у Сусеку и Зајачи у односу на Београд.
- Садржај метала у пчелама и перги има приближно једнак опсег концентрација, са израженим разликама у њиховој заступљености у зависности од локалитета пчелињака. У меду је запажена знатно нижа концентрација (10–100 пута) свих анализираних метала у односу на пчеле и пергу. Можемо рећи да свака средина намеће специфичан профил загађења, који се одражава на садржај метала у пчелама и њиховој храни. У Београду су значајно више концентрације Co, Cu, Fe и Na у пчелама, Ca, Cu, Mn и Ni у перги, као и Sr у свим узорцима у односу на друга два локалитета. Пчелињак у Зајачи се издваја по значајно вишим концентрацијама Ba, Cd и Pb у свим узорцима у односу на друга два локалитета. У меду из Зајаче су забележене највише концентрације Al, Ba, Cd, Cr, Mn, Ni, Pb и Zn у односу на мед из Београда и Сусека. Пчелињак у Сусеку се издваја са значајно вишим концентрацијама Ca и Mg у меду.
- Највише активности фенол оксидазе и профенол оксидазе, које су забележене у Сусеку крајем зиме, као и у Зајачи током лета, указале су на добру имунокомпетенцију анализираних пчела. Активност ензима глукоза оксидазе, одговорног за антибактеријску и антимицотичну заштиту меда и перге, током зиме је била највиша у хемолимфи пчела у Зајачи, док у летњем активном периоду није било значајних разлика између локалитета. Пчеле из Београда се издвајају са најнижим вредностима за оба ензима.
- Анализа количине и липидног састава масног тела у пчелама са различитих локалитета је указала је на значајне ефекте срединских фактора. Генерално, пчеле из Сусека су се издвојиле са највећом масом масног тела, у односу на друга два локалитета.
- Значајно виши удео засићених масних киселина почетком зиме и током лета је забележен у масном телу пчела из Сусека, а крајем зиме код пчела из Зајаче у односу на друге локалитете. Пчеле из Београда карактерише значајно виши удео незасићених масних киселина у масном телу током сва три периода.
- Забележене су разлике у релативној заступљености четири *n*-алкана, идентификована у хомогенатима пчела из Београда ( $C_{29} > C_{27} > C_{25} > C_{23}$ ), Сусека ( $C_{27} > C_{29} > C_{25} > C_{23}$ ) и Зајаче ( $C_{27} > C_{23} > C_{29} > C_{25}$ ). У Београду је најзаступљенији нанакозан ( $C_{29}$ ), док је хептакозан ( $C_{27}$ ) најзаступљенији у узорцима пчела из Сусека и Зајаче. Пчеле из Београда имају значајно нижи садржај укупних угљоводоника у односу на пчеле из Сусека, док су се пчеле из Зајаче издвојиле крајем зиме са највишим вредностима.

Опстанак популације у екосистему зависи од одговора јединки унутар популације на разноврсне услове средине, те управо детекција механизма и промена у биохемијском и физиолошком одговору јединки унутар популације може обезбедити рани наговештај присуства стресогених фактора средине. Дефинисање узрочно–последичне везе између квалитета животног окружења и одговора популације доприноси њеној заштити и пре него што наступи колапс у величини популације. Резултати наше студије пружају добру основу за даља испитивања биолошког одговора медоносне пчеле, у погледу утицаја фактора окружења, а тиме и даље дефинисање одговарајућих мера заштите пчелињих заједница.



## VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

На основу прегледа докторске дисертације, Комисија сматра да је она јасно структурирана и урађена у складу са темом дисертације, планом и циљевима предвиђеним у пријави теме. Резултати истраживања су прегледно представљени и правилно анализирани, детаљно дискутовани и упоређени са резултатима других аутора. На основу резултата и дискусије изведени су закључци који дају одговор на постављене циљеве истраживања. Комисија даје позитивну оцену приказа и тумачења резултата истраживања.

## IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

**Да,** Комисија оцењује да је докторска дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

**Да,** Комисија оцењује да дисертација садржи све битне елементе неопходне за овакву врсту рада: дефинисану тему истраживања, преглед постојећих истраживања у области, детаљан приказ експерименталних метода, јасан и прегледан приказ резултата и њихову дискусију коришћењем адекватне литературе. Закључци су правилно изведени из добијених резултата. У списку литературе налазе се сви литературни извори који су цитирани у тексту дисертације.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Резултати ове докторске дисертације пружају значајан оригиналан допринос приказу стања медоносне пчеле (*Apis mellifera* L.) током летњег активног периода и зимског периода мировања, на стаништима са различитим антропогеним утицајем. Медоносна пчела је од изузетног економског и еколошког значаја, а последњих деценија бројност њених популација је у паду, те је од изузетног значаја процена широке лепезе биохемијских и физиолошких карактеристика ове врсте, како током различитих периода године, тако и на различитим локалитетима. Анализе су обухватиле лабораторијске тестове, као и теренски рад где је добијен *in situ* одговор медоносне пчеле на специфичне факторе средине. Од нарочитог значаја су анализе хемолимфе пчела, које су јединствене у нашем региону, са делом резултата представљеним у виду библиотеке спектра једињења метаболома хемолимфе, која представља оригинални допринос у области ентометаболичких студија медоносне пчеле. Део добијених резултата је публикован у два научна рада категорије M21a и M22 што указује на квалитет и оригиналност спроведених истраживања.

Напомена: Докторска дисертација је прошла проверу оригиналности применом софтвера за детекцију плагијаризма **iThenticate**, који је показао да „индекс сличности” (енгл. similarity index) износи 11 % (према упутству произвођача, све вредности испод 15 % представљају оригиналан рад). Комисија закључује да је ова докторска дисертација оригинално дело и да не представља плагијат.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања
По мишљењу Комисије, ова докторска дисертација нема значајних недостатака.
<b>X ПРЕДЛОГ:</b>
На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:
- да се докторска дисертација под називом „Биохемијски и физиолошки параметри стања медоносне пчеле ( <i>Apis mellifera</i> L.) током летњег и зимског периода на стаништима са различитим антропогеним утицајем” <b>прихвати</b> , а кандидату Снежани Орчић <b>одобри одбрана</b> .

У Новом Саду, 05.08.2020.

#### ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

---

Др Јелена Пураћ, редовни професор,  
Природно-математички факултет,  
Универзитет у Новом Саду, председник

---

Др Данијела Којић, редовни професор,  
Природно-математички факултет,  
Универзитет у Новом Саду, ментор

---

Др Нада Плавша, редовни професор,  
Пољопривредни факултет,  
Универзитет у Новом Саду, члан

---

Др Душко Благојевић, научни саветник,  
Институт за биолошка истраживања „Синиша  
Станковић“, Универзитет у Београду, 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.