

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
1. Датум и орган који је именовao комисију Наставно-научно веће Природно-математичког факултета у Новом Саду 01. 09. 2020. године.
2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен: 1. др Силвана Андрић , редовни професор, ужа научна област Физиологија животиња, изабрана у звање 21.07.2009. године, Универзитет у Новом Саду Природно-математички факултет, Нови Сад, председник 2. др Соња Каишаревић , ванредни професор, ужа научна област Физиологија животиња, изабрана у звање 01.01.2017. године, Универзитет у Новом Саду Природно-математички факултет, Нови Сад, члан 3. др Александар Остојић , ванредни професор, ужа научна област Екологија, биогеографија и заштита животне средине, изабран у звање 06.03.2016. године, Универзитет у Крагујевцу, Природно-математички факултет, Крагујевац, члан 4. др Ивана Теодоровић , редовни професор, ужа научна област Заштита животне средине, изабрана у звање 03.03.2016. године, Универзитет у Новом Саду Природно-математички факултет, Нови Сад, члан, ментор
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
1. Име, име једног родитеља, презиме: Марко (Радомир) Николић
2. Датум рођења, општина, држава: 14.06.1981. године, Никшић, Црна Гора
3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Универзитет у Подгорици Природно-математички факултет Студијаска група Биологија Дипломирани биолог
4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2014; Докторске академске студије Доктор наука – еколошке науке
5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: -
6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: -
III НАСЛОВ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ: Континуирани мониторинг стања животне средине: Оптимизација система заснованог на физиолошким одговорима дагње (<i>Mytilus galloprovincialis</i> Lamarck, 1819)
IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ: Докторска дисертација припада научној и ужој научној области Заштита животне средине, научној дисциплини Екотоксикологија. Написана је на српском језику, латиничним писмом, а извод је дат на српском и енглеском језику. Испред основног текста налазе се: наслов рада и захвалница. Докторска дисертација обима 206 страна, почиње садржајем и листом коришћених скраћеница. Текст је подељен у 7 нумерисаних

поглавља: 1. Увод, 2. Преглед литературе, 3. Подручје истраживања, 4. Циљеви, 5. Материјал и методе, 6. Резултати и дискусија, 7. Закључак, а завршава списком коришћене литературе (није нумерисано као поглавље али је пагинирано). Дисертација садржи 52 слике (овим бројем су обухваћене фотографије, графикони и шеме), 23 табеле и 370 референци. Након литературе следи (непагинирано) биографија кандидата, кључна документацијска информација на српском и енглеском језику и план третмана података.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Наслов докторске дисертације

Наслов докторске дисертације јасно и недвосмислено упућује на тему и циљеве истраживања и садржај дисертације.

Увод

У овом поглављу је дат кратак приказ проблема мониторинга стања животне средине. Указано је на основне постулате и недостатке актуелних биомониторинг и мониторинг програма, са посебним освртом на биомаркере, значај и неопходност даљег развоја метода за рано упозорење и континуирани мониторинг које би омогућиле брзе реакције у случају акцидентних ситуација.

Комисија сматра да је уводом кандидат јасно изложио проблематику истраживања и његов значајем са научног аспекта и са становишта управљања стањем животне средине.

Преглед литературе

Ово поглавље је подељено у шест логичних целина, у складу са предметом, темом и циљевима истраживања. У првој целини – Мониторинг – кандидат упознаје читаоца представља основне принципе регулаторно условљеног мониторинга хемијског и еколошког статуса / потенцијала водних тела, са посебним освртом на воде обалног мора у складу са захтевима Оквирне Директиве о Водама и националних прописа. У другом делу – Биоиндикатори – јасно и сажето је представљен општи концепт примене биоиндикаторских организама у биомониторингу стања животне средине, посебно акватичних екосистема. У трећем делу – Биомаркери – на основу прегледа литературне грађе из најуже области, кандидат даје дефиниције појма, представља типове биомаркера и начине њихове примене у биомониторингу и ретроспективној процени ризика од хемијског стреса. Веома прегледним приказом представљени су најчешће коришћени биомаркери, на свим нивоима биолошке организације. У четвртом делу – Мекушци у биомониторинг програмима са освртом на шкољке – дат је критички осврт на концепт и досадашња искуства у примени мекушаца у различитим биомониторинг програмима. Назначена је и објашњена разлика између пасивних и активних, континуираних и фазних биомониторинг програма. У петом делу – Физиолошки биомаркери код маркоинвертебрата – кандидат представља физиолошке биомаркере и даје веома детаљан али систематичан преглед примене физиолошких биомаркера, са посебним акцентом на покрете љуштуре и срчани ритам у досадашњим научним и примењеним истраживањима. Посебна пажња је посвећена утицају биотичких и абиотичких фактора на одабране физиолошке маркере као и на осетљивост ових биомаркера на различите класе ксенобиотика и њихових смеша у лабораторијским и ex situ условима У шестом делу - Опис врсте *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 - детаљно је описан модел организам на коме се базира систем за континуирани биомониторинг.

Комисија констатује да је кандидат подробно изучио и обрадио савремене литературне изворе из области која је предмет ове дисертације, и то не само научне публикације већ и низ регулаторних докумената којима се уређује област контроле квалитета животне средине. Поглавље је написано систематично, јасно и са великим бројем информација које обухватају све неопходне аспекте за истраживања спроведена у дисертацији. Прегледом литературе кандидат отвара простор за јасно дефинисање потреба за даљим истраживањима и развојем биомониторинг методологије засноване на физиолошким одговорима одабране врсте.

Подручје истраживања – Бококоторски залив

У овом поглављу дат је концизан опис подручја истраживања, специфичности Бококоторског залива и специфичних еколошких услова морског екосистема и локација одабраних за поставку система за континуирани биомониторинг као и за испитивања примене физиолошких маркера у пасивном фазном мониторингу.

Комисија сматра да је одабир подручја за планирана истраживања адекватан.

Циљеви докторске дисертације

Основни циљ истраживања у оквиру ове дисертације је допринос примени биомониторинг система заснованог на праћењу физиолошких параметара дагње као система за рано упозорење, који би у комбинацији са еколошким мониторингом, базираним на одређивању физичко-хемијских и биолошких параметара, омогућио потпунији увид у стање морског екосистема, рано откривање екосистемски релевантних промена еколошких фактора и благовремено упозорење на потенцијалне акцидентне ситуације изазване хемијским стресорима.

Неопходан корак ка остварењу овог циља је оптимизација система. Током континуираног експеримента у трајању од годину дана испитана је осетљивост одабране врсте и аутоматизованог *ex situ* система на природна варирања еколошких фактора. Испитана је поузданост система за рано упозорење, варијабилност физиолошких биомаркера код дагње, оптимално време коришћења одабраног биоиндикатора у процесу континуираног биомониторинга, као и недостаци постојећег биомониторинг система у циљу његовог даљег усавршавања и имплементације, укључујући и унапређења постојећег аутоматизованог система за праћење срчане активности у делу везаном за трансфер и обраду сигнала.

Примењивост одабраних физиолошких биомаркера у пасивном биомониторингу на нативним јединкама медитеранске дагње са одабраних локалитета у градијенту загађења испитана је на одабраној студији случаја у Бококоторском заливу.

Комисија сматра да су циљеви докторске дисертације реално и прецизно формулисани у складу са постављеним планом и динамиком истраживања. Дефинисани циљеви су остварени чиме је омогућена успешна реализација докторске дисертације.

Материјал и методе

Поглавље је подељено у пет делова. У првом је описана експериментална поставка а) континуираног мониторинга физиолошких одговора дагњи у *ex situ* мониторинг систему у трајању од годину дана, укључујући и опис тестова салинитета и б) пасивног биомониторинга на одабраној студији случаја. У другом делу су представљене методе коришћене у анализи физичко-хемијских и биолошких параметара квалитета воде. У трећем делу су детаљно описани и илустровани аутоматизовани системи за праћење покрета љуштуре и срчаног ритма шкољки. У четвртом делу је објашњена процедура преноса сигнала и обраде података добијених праћењем одабраних физиолошких биомаркера у аутоматизованом систему. У последњем петом делу је дат преглед статистичких метода за обраду добијених резултата.

Комисија сматра да су све примењене методе у складу са постављеним циљевима истраживања. Јасан и детаљан опис свих експерименталних и рачунских процедура омогућава поновљивост резултата експеримента на задовољавајућем нивоу.

Резултати и дискусија

Јединственим поглављем су обухваћени резултати и дискусија, што је у потпуности оправдано темом, циљевима и концептом докторске дисертације. Како је у питању рад на развоју мониторинг метода и провере њихове применљивости, резултати имају степенасту, односно хијерархијску структуру, јер сваком наредном кораку мора претходити кратка дискусија претходно добијених и приказаних резултата.

Поглавље је подељено у три тематске целине. Прва обухвата резултате континуираног мониторинга у трајању од једне године. Приказани су и продискутовани резултати добијени једногодишњим праћењем одабраних физиолошких биомаркера код шкољки у *ex situ* мониторинг систему (срчани ритам и покрети љуштуре) са аспекта дневне и сезонске динамике у функцији промењивих еколошких параметара. Другу целину чини приказ и дискусија одговора одабраних биомаркера на екстремну промену услова средине (тестови салинитета) у континуираном и пасивном биомониторингу. Приказ техничких проблема који су се јавили током мониторинга, начина њиховог превазилажења као и активности у циљу унапређења опреме за мониторинг у делу преноса података дат је у трећој целини.

Комисија сматра да су начин организације, квалитет приказа и описа резултата на задовољавајућем нивоу и да начин излагања резултата представља добру основу за квалитетну дискусију. Кандидат је добијене резултате упоредио са доступним резултатима других истраживања која се баве истом или сличном проблематиком, уз критички осврт на своје и резултате других истраживања. Сва представљена образложења су у складу са савременим научним сазнањима и практичним потребама мониторинга аквазичних екосистема. Комисија сматра да је дискусија написана у складу са постављеним циљевима истраживања, да је систематична, аргументована, непретенциозна, у складу са практичним значајем који дисертација има.

Закључак

У оквиру овог поглавља 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

Литература је цитирана на одговарајући начин, а избор референци је примерен тематици која је предмет ове дисертације. Поред научних радова, кандидат је, сходно проблематици, проучио и цитирао велики број стандардних метода за анализу параметара квалитета воде, званичних извештаја о стању квалитета воде обалног мора Републике Црне Горе као и регулаторних докумената Европске Уније и Црне Горе из области интегрисаог управљања водним ресурсима и

заштитом животне средине. Познавање проблематике стечено прегледом наведених литературних извора, кандидату пружа добру полазну основу не само за даљи научни рад, него и стручни, шире друштвено-корисни допринос у области заштите животне средине.

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

Nikolić M., Kuznetsova T., Kholodkevich S., Gvozdrenović S., Mandić M., Joksimović D., Teodorović I. (2019) Cardiac activity in the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) as a biomarker for assessing sea water quality in Boka Kotorska Bay, South Adriatic Sea. *Mediterranean Marine Science* 20 (4), 680-687. **M22**

Kholodkevich S., Sharov A., Kuznetsova T., Kurakin A., Joksimović D., **Nikolić M.** (2019) Physiological testing of *Mytilus galloprovincialis* for the environmental assessing of coastal marine areas: a case study in Boka Kotorska Bay, the Adriatic Sea. *Chemistry and Ecology* 35 (7), 631-643. **M23**

Gvozdrenović S., **Nikolić M.**, Pešić V., Peraš I., Mandić M. (2019) First data on the alien mollusc *Fulvia fragilis* (Forsskal in Niebuhr, 1775) (Cardiida: Cardiidae) from the Adriatic Sea. *Acta Zoologica Bulgarica* 71 (2), 267-272. **M23**

Kuznetsova T., Kholodkevich S., Sharov A., Kurakin A., **Nikolić M.** (2019) Adaptive potential diagnostics in selected marine invertebrates for assessing ecological status (health) of coastal marine ecosystems. SETAC Europe 29th Annual Meeting, Book of Abstracts, pp. 140. **M34**

Nikolić M., Gvozdrenović S., Kholodkevich S., Kuznetsova T., Kurakin A. (2017) Valve movements in bivalves as a behavioral biomarker. XXII International Scientific-Professional Information Technology Conference, pp. 149-152. **M33**

Gvozdrenović S., Mandić M., Pešić V., **Nikolić M.**, Pešić A., Ikica Z. (2017) Comparison between IMTA and monoculture farming of mussels (*Mytilus galloprovincialis* L.) in the Boka Kotorska Bay. *Acta Adriatica* 58 (2), 271-284. **M23**

Joksimović D., Castelli A., Mitrić M., Martinović R., Perošević A., **Nikolić M.**, Stanković S. (2016) Metal Pollution and Ecotoxicology of the Boka Kotorska Bay. pp. In: Joksimović, A. et al. (Ed.) The Boka Kotorska Bay Environment. Springer International Publishing Switzerland, pp. 129-150, DOI 10.1007/978_2016_40 **M13**

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Резултати праћења базалног срчаног ритма и покрета љуштуре (отвореност љуштуре и број адукција) дагњи у контролним условима, без присуства хемијских стресора, у реалном времену, континуирао током периода од годину дана су показали како индивидуалну, тако и групну варијабилност ових физиолошких биомаркера код јединки у мониторинг систему у функцији времена. Технички проблеми везани за одржавање система сигурно су значајно допринели варијабилности и неконзистентности одговора јединки у тесту током дугог временског периода. У циљу унапређења постојећег аутоматизованог система за праћење срчаног ритма реализовано је ново решење у домену преноса података са мерне опреме на рачунар. Бежична размена података ни на који начин не деградира перформансе целокупног система. Уочено је међутим, да све шкољке, без обзира на индивидуалне варијације, дају исти тренд понашања у функцији времена, па се могу посматрати као група. Овакав образац понашања представља кључни предуслов да се алармни сигнал биомониторинг система базира на групном одговору јединки на стрес. У том смислу, индивидуалне варијације, посебно покрета љуштуре, не доводе у питање поузданост система.

Покрети љуштуре и срчани ритам у затвореном систему немају изражен циркадијални карактер. Дневна динамика не представља фактор који би значајно утицао на конзистентност и поузданост одговора мониторинг система у случају акцидентне ситуације. Супротно литературним подацима, анализа индивидуалне и групне варијабилности јединки у систему за мониторинг није показала јасан сезонски карактер срчаног ритма. Током једногодишњег континуираног мониторинга физиолошких биомаркера дагњи месечном динамиком је праћен велики број физичких, хемијских и биолошких параметара квалитета воде на локалитету са кога је захватана вода за мониторинг систем. Током целокупног трајања експеримента, квалитет воде је био добар и није регистровано повећано оптерећење загађујућим материјама. Резултати мултиваријантне анализе су показали да срчани ритам не зависи од варирања еколошких фактора у рангу уобичајених вредности карактеристичних за одабрани локалитет. Може се констатовати висока поузданост система у смислу изостанка лажно позитивног алармног сигнала при значајним варирањима еколошких фактора, пре свих салинитета и температуре карактеристичним за приобаље. Нажалост (али срећом по екосистем Бокототорског залива) током експерименталног периода није дошло до значајног погоршања квалитета воде, па се о поузданости алармног система у случају стварне акцидентне ситуације не може закључити.

Резултати указују на различите трендове биомаркера у функцији времена. Док средње вредности отвореност љуштуре јединки у мониторингу не показују јединствен тренд промена вредности током једногодишњег периода, просечан број адукција се линеарно смањује током трајања мониторинга код свих јединки, слично смањењу вредности срчаног ритма. Промене се не могу тумачити нити сезонском варијабилношћу, нити биологијом врсте, а није утврђена ни веза са променљивим еколошким факторима. Мора се констатовати да је систем склон “замору”, што потенцијално може компромитовати поузданост мониторинг система услед несинхроног или недовољно јасног сигнала (аларма).

Укупно кондиционо стање јединки у систему за мониторинг праћено је одговором на стрес. Одабрани биомаркери – покрети љуштуре, варијабилност срчаног ритма и време потребно за опоравак срчаног ритма након краткотрајног излагања медијуму драстично смањеног сапинитета показали су се као добри индикатори кондиционог статуса јединки. Резултати тестова сапинитета су показали да су покрети љуштуре робуснији биомаркер од срчаног ритма, јер је одговор на стрес био конзистентан у свим тестовима сапинитета током једногодишњег мониторинга. Константно продужавање периода потребног за опоравак срчаног ритма након престанка дејства стресора већ од другог месеца мониторинга, а посебно потпуни изостанак реакције у смислу промена срчаног ритма услед деловања стресора током последња четири месеца мониторинга указују да јединке у мониторинг систему имају ограничени оптимални век. Већ након три до четири месеца континуираног мониторинга долази до “замора” система. Осим тога, од иницијално постављених 16 јединки, до краја мониторинг периода је преживело само 12 јединки. Овако висок морталитет указује да систем не пружа оптималне услове за живот у дужем периоду. На основу погоршања кондиционог стања јединки у систему током времена и високог морталитета у касним фазама мониторинга, намеће се потреба за редовнијом анализом резултата фреквентних мерења срчаног ритма и закључак да оптимално време коришћења одабраног биоиндикатора износи три месеца. Јединке у систему је потребно заменити на сваких три месеца и на тај начин повећати поузданост система за рано упозорење.

Пример примене физиолошких биомаркера на одабраној студији случаја на одабраним локалитетима у Бокоторском заливу (референтни локалитет и локалитет под антропогеним притиском различитог интензитета) показао је да се методологија заснована на коефицијенту варијације и времену опоравка срчаног ритма након краткотрајног стреса у принципу може користити у фазном пасивном биомониторингу на локалитетима у градијенту загађења. Одговор јединки узоркованих на различитим локалитетима на стрес јасно раздваја реферални од локалитета под интензивним антропогеним притиском. Међутим, било би упутно уместо теста сапинитета одабрати други тип стресора коме би се јединке са референтног и одабраних локалитета изложиле на сличан начин као смањеном сапинитету. Да би резултати добијени праћењем промена срчаног ритма након излагања краткотрајном стресу једнозначно указали на лоше кондиционо стање јединки, условљено загађењем на одабраним локалитетима, стресор не би смео бити из групе абиотичких фактора на које се различите популације одабране врсте лако адаптирају. Овим се отвара простор за даља истраживања која би имала за циљ одабир адекватног ксенобиотика у оптималној концентрацији у циљу веће поузданости и релевантности резултата добијених пасивним биомониторингом заснованом на физиолошким одговорима одабраног тест организма на стрес.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

На основу прегледа и анализе докторске дисертације Комисија сматра да је докторска дисертација добро конципирана и структурисана и урађена у складу са темом дисертације, планом и циљевима предвиђеним у пријави теме. Кандидат је експерименте добро испланирао и урадио савесно. Резултати су приказани јасно и систематично. Тумачење резултата је критичко, аргументовано, без спекулација и у складу са савременим научним и регулаторним концептима. Резултати су поређени са резултатима других истраживања, али дискутовани и у контексту регулаторних захтева у области заштите акватичних ресурса. Дискусија је непретенциозна, али јасна у одбрани заузетих ставова који се делимично косе са конвенцијама у области. Добијени закључци директно произилазе из остварених резултата. У складу са наведеним, Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачења резултата истраживања.

Тестирањем на плагијаризам софтвером iThenticate (<https://www.ithenticate.com/>) утврђен је проценат преклапања од 4%. Увидом у Извештај о тестирању на плагијаризам Комисија констатује да је кандидат адекватно цитирао сву коришћену литературу.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

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

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе
Комисија оцењује да докторска дисертација садржи све битне елементе. Наслов дисертације јасно упућује на тему истраживања и садржај дисертације. Предмет, тема и циљеви истраживања су прецизно и адекватно дефинисани и формулисани. Представљени су важећи ставови и најважнији резултати скоријих истраживања и активности у области. Методологија рада је адекватна и описана веома детаљно. Резултати добијени током израде дисертације су систематично и прегледно приказани, анализирани и критички продискутовани. Закључци су усклађени са постављеним циљевима и директно проистичу из приказаних резултата истраживања. У списку литературе налазе се сви литературни извори који су цитирани у тексту дисертације.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци
Комисија сматра да ова докторска дисертација представља оригиналан допринос науци, али да истовремено има велики практичан значај. У научној дисциплини заштита животне средине, ова два аспекта су подједнако значајна и међусобно чврсто испреплетана, што је кандидат препознао и уважао приликом планирања и израде дисертације.
Докторска дисертација представља допринос развоју система за биомониторинг заснованог на физиолошким биомаркерима код медитеранске дагње са циљем примене у континуираним мониторинг програмима у реалном времену као и у периодичном мониторингу стања животне средине, примарно морског екосистема.
Докторска дисертација представља и допринос даљој афирмацији методологије базиране на физиолошким биомаркерима ефекта у процени квалитета водних ресурса и еколошког стања морских екосистема у циљу превенције и карактеризације еколошког ризика и побољшања мера заштите природних екосистема и здравља људи.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања
Комисија сматра да ова докторска дисертација нема суштинских недостатака који би битно утицали на реализацију постављених циљева, резултате истраживања и изнете закључке.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

Комисија предлаже да се докторска дисертација под насловом „Континуирани мониторинг стања животне средине: Оптимизација система заснованог на физиолошким одговорима дагње (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819)“ **прихвати**, и да се кандидату **Марку Николићу одобри одбрана**.

У Новом Саду, 25.11.2020.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Др Силвана Андрић , редовни професор, председник

Др Соња Каишаревић, ванредни професор, члан

Др Александар Остојић, ванредни професор, члан

др Ивана Теодоровић, редовни професор, члан, ментор