

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ -  
БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА**

На V редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 8. 3. 2024. године, на основу дописа ментора, др Иване Живић, редовног професора Универзитета у Београду – Биолошког факултета и др Дејана Мирчића, доцента, Државног универзитета у Новом Пазару, Универзитета у Београду, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Анђелине З. Татовић (рођ. Радојевић), истраживача сарадника Универзитета у Београду – Биолошког факултета под насловом: „Утицај пастрмског рибњака на антиоксидативни статус одабраних врста акватичних бескичмењака“, у саставу:

др Катарина Стојановић, доцент, Универзитет у Београду – Биолошки факултет

др Зоран Марковић, редовни професор, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет

др Миленка Божанић, научни сарадник, Универзитет у Београду – Биолошки факултет

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Биолошког факултета подноси следећи

## **ИЗВЕШТАЈ**

### **Општи подаци о докторској дисертацији**

Докторска дисертација кандидаткиње Анђелине З. Татовић написана је на 123 стране, а садржи 8 графичких приказа, 4 табеле и 26 слика. Текст докторске дисертације чини 8 поглавља: Увод (18 страна), Циљеви истраживања (1 страна), Материјал и методе (17 страна), Резултати (34 стране), Дискусија (22 стране), Закључак (6 страна), Референце (22 стране) и Прилог (3 стране). Дисертација садржи и насловну страну на српском језику, насловну страну на енглеском језику, страну са подацима о менторима и члановима комисије, захвалницу, резиме на српском језику, резиме на енглеском језику, садржај, изјаву о ауторству и биографију кандидаткиње.

## Анализа докторске дисертације

Поглавље **Увод** садржи 5 потпоглавља. У првом потпоглављу „**Биомониторинг и биоиндикатори**“, кандидаткиња указује на значај организама макрозообентоса у биомониторингу копнених вода као једних од најпоузданијих у оцени квалитета вода текућица, истичући читав низ биолошких предности за њихово коришћење у биомониторингу (дуг животни век, ограничена покретљивост, осетљивост на загађење, велика бројност и диверзитет). Посебан акценат је стављен на две групе макроинвертебрата које су у употреби као биоиндикатори квалитета вода: Ephemeroptera и Amphipoda. За обе групе су наведене особине које их чине погодним за употребу у биомониторингу текућица (Ephemeroptera – начин живота, дужина ларвалног развића, начин исхране, тип станишта који насељавају, високе осетљивости на срединске промене и полутанте; Amphipoda - бројчана доминантност на својим стаништима, ограничена дисперзија и мобилност, осетљивост на полутанте, посебно на тешке метале и органске загађиваче). У наставку овог потпоглавља дате су морфолошке карактеристике и биологија ларви модел организама из реда Ephemeroptera – *Ephemera danica* (Müller, 1764) и *Ecdyonurus venosus* (Fabricius, 1775) и реда Amphipoda *Gammarus dulensis* (S. Karaman, 1929).

У другом потпоглављу „**Реактивне врсте кисеоника (РОС) и оксидативни стрес**“ описани су механизми настанка реактивних кисеоничних врста у ћелијама, чија прекомерна продукција и неефикасна елиминација узрокују оксидативни стрес, као и сам појам и настанак оксидативног стреса. Због великог потенцијала да изазову оксидативна оштећења битних ћелијских биомакромолекула, супероксидни анјон и хидроксил-радикал су највише изучаване реактивне врсте кисеоника, па је посебан акценат стављен на њих. Концентрација РОС је динамичан параметар због своје константне продукције и елиминације. У нормалним условима, количина продукованог приближно је једнака количини елиминисаног РОС. Када се та равнотежа наруши настаје оксидативни стрес. Тада је стабилна концентрација РОС привремено или трајно повећана. Промене у ћелијским компонентама индуковане оксидативним стресом утичу на модификацију метаболичких процеса, што узрокује физиолошке и патолошке промене у организмима. Да би се организам заштитио од последица оксидативног стреса, јавља се метаболички одговор у виду индукције компоненти антиоксидативног система заштите, о коме је

писано у наредном потпоглављу под називом „*Антиоксидативни систем заштите*“. У овом делу доктората дата је подела компоненти антиоксидативних система, као и приказ најважнијих карактеристика и механизма деловања антиоксидативних ензима који су предмет истраживања ове докторске дисертације. Код акватичних организама, добро организовани одбрамбени антиоксидативни систем има улогу у заштити њихових ткива од прооксиданаса који су присутни у води и седименту, нарочито у близини испусних вода пастрмских рибњака. У потпоглављу „*Биомаркери*“ дата је основна подела биомаркера и наглашен је значај употребе биомаркера у биомониторингу. Утврђивање одговора организма на срединске стресоре употребом биомаркера оксидативног стреса представља најадекватнију методу за откривање раног утицаја загађивача, што омогућава предвиђање ефеката на нивоу популације на основу реакције јединке. У последњем потпоглављу увода „*Утицај испусних вода пастрмских рибњака на текућице*“ описан је ефекат који отпадне воде пастрмских рибњака могу да имају на реципијент, при чему долази до погоршања квалитета воде реципијента низводно од рибњака и до промене структуре дна реципијента. У Србији, изградња пастрмских рибњака представља профитабилну грану пољопривреде, а број рибњака је у сталном порасту. Стога је неопходно посебну пажњу обратити на загађење које настаје као последица излива отпадних вода из рибњака у реке на којима се они подижу.

У поглављу **Циљеви истраживања**, кандидаткиња као главне циљеве дисертације наводи: праћење утицаја испусних вода пастрмског рибњака током различитих сезона на реци Црници на одабране биомаркере код ларви *E. danica* и јединки *G. dulensis*, праћење утицаја ефлуената пастрмских рибњака на реци Црници и реци Скрапеж на нивое активности ензима антиоксидативног система заштите ларви *E. venosus*, утврђивање интерспецијских разлика у вредностима параметара антиоксидативног система заштите код ларви врста *E. danica*, *E. venosus* и врсте *G. dulensis*, одређивање класа квалитета воде реципијента пре и после испуста ефлуената из рибњака мерењем физичких и хемијских параметара и коришћењем макроинвертебрата као биоиндикатора, испитивање присуства тешких метала у седименту реке Црнице и испитивање њиховог потенцијалног утицаја на систем антиоксидативне заштите *E. danica* и *G. dulensis*, као и анализа утицаја срединских фактора на структуру и динамику заједница макрозообентоса реке Црнице.

Поглавље **Материјал и методе** садржи 7 потпоглавља. У прва два потпоглавља *„Опште и хидроморфолошке карактеристике истраживаног подручја, рибњака и локалитета на реци Црници“* и *„Опште и хидроморфолошке карактеристике истраживаног подручја, рибњака и локалитета на реци Скрапеж“* дат је кратак опис истраживаних река, њихових геолошких карактеристика, рељефа и вегетације, као и климатских карактеристика речног слива. Такође, описани су и рибњаци и истраживани локалитети, са посебним освртом на њихове најбитније карактеристике у периоду истраживања (април, јул и октобар 2015. године и јануар 2016. године) и дати подаци за надморску висину, географску дужину и ширину локалитета. У потпоглављу *„Мерење физичких и хемијских параметара воде“*, приказане су методе за одређивање физичких и хемијских параметара воде како на терену, тако и у лабораторији. На терену су мерени следећи физички и хемијски параметри: температура воде, концентрација кисеоника, засићеност воде кисеоником, рН и електропроводљивост воде, ширина и дубина речног корита, као и брзина тока. У потпоглављу *„Хемијска анализа седимента“* описане су методе коришћене за хемисјку анализу седимента. Мерене су концентрације следећих елемената: антимона (Sb), арсена (As), кадмијума (Cd), хрома (Cr), бабра (Cu), живе (Hg), олова (Pb), мангана (Mn), никла (Ni), стронцијума (Sr), селена (Se), цинка (Zn), гвожђа (Fe), фосфора (P) и сумпора (S). У потпоглављу *„Узорковање и припрема хомогената и одређивање специфичних активности антиоксидативних ензима и концентрације глутатиона“* наведене су и описане методе за одређивање концентрација супероксид-дисмутазе (SOD), глутатион-пероксидазе (GPx), глутатион-трансферазе (GST), глутатион-редуктазе (GR) и концентрације глутатиона (GSH).

У следећем потпоглављу, *„Анализа заједница макрозообентоса“*, описана је методологија за прикупљање и идентификацију узорака. За сакупљање узорака, коришћена је модификована Сурберова мрежа захватне површине 300 cm<sup>2</sup> промера окаца 250 μm. Еколошке анализе, подразумевале су израчунавање сапробног индекса, индекса диверзитетa и биотичких индекса, одређивање бројност јединки *E. danica* (Ed<sub>ab</sub>) као и процентуално учешће Ephemeroptera у заједници макрозообентоса (Eph%) помоћу Sigma plot 12 софтвера (Systat Software Inc., USA).

У седмом потпоглављу приказане су *„Статистичке анализе“* које су коришћене за обраду добијених података: LCD тест, једнофакторска (ANOVA), двофакторске анализе

варијансе (two-way ANOVA), Holm-Sidak тест и Пирсонов коефицијент корелације. Све наведене анализе урађене су у Sigma Plot 12 софтверу (Systat Software Inc., USA). Анлиза главних компоненти (PCA) урађена је у XLSTAT програму (верзија 7.5.2; Addinsoft), а анализа коинерције (CIA) помоћу ADE-4 softvera. Сви добијени резултати изражени су као средња вредност ± стандардна грешка.

У поглављима **Резултати** подаци су презентовани у неколико организованих целина. Анализе добијених резултата представљене су главним текстом, које на адекватан начин допуњују слике и графици уз примену одговарајуће статистичке обраде. Резултати су тумачени, дискутовани и поређени међусобно са релевантним литературним подацима.

Прва два потпоглавља Резултата односе се на „*Физичке и хемијске параметре вода реке Црнице и Скрапеж*“. Код физичких и хемијских параметара констатовано је да су израженије сезонске (посебно летње и јесење) од лонгитудоналних промена измерених вредности. Кандидаткиња указује на физичке и хемијске параметре воде који се, иако без статистичке значајности, највише мењају под директним утицајем испусних вода пастрмског рибњака. У реци Црници то су концентрација амонијака ( $\text{NH}_3$ ), органског азота (Norg), ортофосфата ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), укупног фосфора (Pt), и биолошке потрошње кисеоника ( $\text{BOD}_5$ ), чије вредности расту низводно од рибњака, док је у случају засићености воде кисеоником ( $\text{DO}\%$ ) и концентрације раствореног кисеоника (DO) забележен пад низводно од рибњака. Ове промене су пре свега условљене вредностима ових параметара у лето и/или јесен, док је изостанак статистичке значајности последица изостанка промене или супротосмерним променама у пролеће и/или зиму. У реци Скрапеж највеће промене забележене су код следећих параметара: концентрација раствореног кисеоника, концентрација нитрата, нитрита, сулфата, амонијум јона и укупног органског угљеника, док се од пролећних вредности абиотичких параметара реке Црнице издваја проток, чије су вредности генерално високе у зиму и пролеће, при чему су пролећне неколико пута веће од оних мерених у реци Скрапеж.

Утицаја ефлуената пастрмског рибњака на водоток реке Црнице процењен је и коришћењем односа маса рибе кроз проток ( $\text{mf}/\text{Q}$ ), при чему је констатовано је да се највећи утицај испољава у јесен, а потом у лето, када је проток низак, док најмањи утицај рибњак испољава током пролећа и зиме, када су забележене високе вредности протока. Код *E. venosus*, у реци Црници утицај рибњака у потпуности изостаје због високих

вредности протока током пролећа. Kod *E. danica* и *G. dulensis* утицај протока на мерене активности антиоксидативних ензима највише се испољава током лета и јесени, када је изражен и синергистички ефекат бројних срединских фактора (проток, температура воде, рН воде, присуство органске материје и др.).

У следећем потпоглављу „*Хемијски састав седимента реке Црнице*“ приказана анализа је показала одсуство статистички значајних разлика између концентрација анализираних елемената како између сезона, тако и између локалитета. Значајан пораст концентрација појединих елемената (кадмијум (Cd), хром (Cr), никал (Ni), стронцијум (Sr), цинк (Zn), сумпор (S) и фосфор (P)) уочен је низводно од рибњака, али само у току лета и јесени, док је у случају бакра (Cu), селена (Se) и живе (Hg) овај пораст забележен само током лета, и то само на другом локалитету. С обзиром на то да је пораст концентрација поменутих елемената ограничен временски и просторно, статистички значајне промене изостају.

У потпоглављу „*Структура и састав заједница макрозообентоса*“ приказана је анализа параметара заједница макрозообентоса реке Црнице која је подразумевала одређивање фаунистичког (квалитативног) састава, одређивање различитих индекса тј. метричких особина заједнице макрозообентоса, у циљу процене утицаја рибњака на саме заједнице. Такође, приказана је мултиваријантна анализа абиотичких фактора воде, хемијског састава седимента и одабраних метричких особина која је подразумевала примену анализе коинерције CIA и PCA анализу.

У реци Црници, на четири истраживана локалитета и током четири сезоне укупно је идентификовано 46 таксона: 29 до нивоа врсте, 1 до нивоа групе врста, 14 таксона је идентификовано до нивоа рода, 1 таксон до нивоа фамилије и 1 до нивоа реда. У оквиру истог потпоглавља кандидаткиња даје приказ вредности сапробног индекса, биотичких ASPT и MASPT индекса као и Шеноновог индекса диверзитета и Симпсоновог индекса сличности. Анализирана је и процентуална заступљеност Ephemeroptera (Eph%) у заједницама макрозообентоса. Вредност индекса сапробности највећа је на локалитету ЦР2, док низводно његове вредности правилно опадају достижући минимум на локалитету ЦР4. Минимална средња вредност ASPT индекса забележена је на локалитету ЦР2, непосредно испод рибњака, а маскимальна на контролном ЦР1 локалитету. Средње вредности MASPTро индекса прате исти тренд лонгитудиналних промена као средње

вредности ASPT индекса. Шенонов индекс диверзитета указује на најмањи диверзитет врста на локалитету непосредно испод рибњака – ЦР2, а на максимални диверзитет на ЦР4 локалитету. Средња вредност Симпсоновог индекса доминантности највећа је на ЦР2, указујући на најмањи диверзитет врста на овом локалитету. Просечна процентуална заступљеност ЕРТ таксона у заједници макрозообентоса најмања је такође на ЦР2 локалитету. Вредности анализираних индекса на другом локалитету јасно указују на изражени утицај рибњака на реципијент.

У оквиру потпоглавља „*Мултиваријантне анализе абиотичких фактора воде и еколошких параметара заједница макрозообентоса*“ реке Црнице наводе се резултати коинерционе СИА анализе, који указују на израженија сезонска од лонгитудиналних варирања анализираних параметара структуре и састава заједнице макрозообентоса. Притом, највеће сезонске разлике јављају се између летњих и јесењих вредности, а најмање између пролећних и зимских. Већина параметара структуре заједница макрозообентоса (Шенонов индекс, бројност јединки, процентуална заступљеност ЕРТ таксона, богатство врстама и Симпсонов индекс) статистички су значајно корелисани са абиотичким факторима:  $Nt$ ,  $Norg$ ,  $NO_3^-$  и електропроводљивошћу. Индекс сапробности (SI), бројност ларви *E. danica* (Edab), ASPT и  $MASPT_{PO}$  статистички су значајно корелисани са физичким факторима воде: проток (Q), брзина (v), дубина (d) и температура воде (TW), као и са  $NH_3$ , а ASPT значајно је корелисан и са  $DO$ ,  $NO_2^-$  и  $PO_4^{3-}$ .

У потпоглављу „*Мултиваријантна анализа хемијског састава седимента и еколошких параметара заједница макрозообентоса*“ СИА анализа је такође показала да не постоји статистички значајна веза између хемијског састава седимента и параметара структуре и састава заједница макрозообентоса, па је анализом РСА корелационог матрикса утврђено да су поједини елементи (Cd, Cr, Ni, Sr, Zn) и нарочито S и P јасно издвојени на позитивном крају F1 осе, која описује највећи део варијабилности, са положајима летњег и јесењег аспекта локалитета ЦР2, што указује да су уочене промене последице деловања пастрмског рибњака.

Антиоксидативни статуси модел организама *E. danica*, *E. venosus* и *G. dulensis*, приказани су у потпоглављу „*Преглед антиоксидативних статуса појединачних модел организама*“. Двофакторска анализа варијансе показује да све елементе антиоксидативне заштите ларви *E. danica* карактерише сличан образац сезонских промена као и већину

параметара структуре и састава заједница макрозообентоса, при чему су максималне вредности забележене у лето, а минималне у јесен. На основу добијених резултата анализираних биомаркера у телу ларви *E. danica* кандидаткиња констатује да је најосетљивији на утицај ефлуената из рибњака промена активности GPx, која се најправилније и најконзистентније мења дуж локалитета и у свим сезонама статистички је значајно већа на локалитету ЦР2 у односу на контролни локалитет ЦР1. Код SOD лонгитудиналне промене практично изостају током свих сезона, нарочито у јесен. Код каталазе активност није детектована, док се концентрација глутатиона мењала неконзистентно током сезона и дуж локалитета. Када је у питању утицај абиотичких фактора воде реке Црнице на анализирани биомаркере, CIA је показала да постоји статистички високо значајна кoструктура између PCA корелационе матрице абиотичких параметара воде и PCA корелационе матрице елемената антиоксидативне заштите ларви *E. danica* ( $P < 0.001$ ). За разлику од абиотичких параметара воде, CIA је показала да не постоји статистички значајна веза између хемијског састава седимента и биотичких параметара. Изузетак је концентрација Fe која је негативно корелисана са SOD ( $R = -0.626$ ,  $P = 0.009$ ) и GSH ( $R = -0.561$ ,  $P = 0.022$ ). Осим тога, промене концентрације GSH су статистички значајно корелисане и са концентрацијама Pb ( $R = -0.577$ ,  $P = 0.019$ ) и Cr ( $R = -0.507$ ,  $P = 0.045$ ).

Карактеристике водотока имају битан утицај на промене активности праћених ензима и концентрације глутатиона и код врсте *E. venosus*, код које се исто промена активности глутатион-пероксидазе издваја као најосетљивији биомаркер. Једнофакторска анализа варијансе показала је да у случају сва три анализирани биомаркера, код ове врсте у реци Скрапеж, долази до статистички значајних варирања између испитиваних локалитета (SOD:  $F = 10,91$ ,  $P < 0,001$ ; GPx:  $F = 4,23$ ,  $P = 0,016$ ; GSH:  $F = 4,87$ ,  $P = 0,008$ ) при чему је LSD тест показао да у случају сва три биомаркера постоји разлика између СК1 и СК2 локалитета. На СК2 локалитету, где је најизраженији утицај рибњака, активности оба ензима (SOD и GPx) расту, а концентрација глутатиона опада. На реци Црнице, једино GPx показује лонгитудиналне промене, али не под утицајем рибњака, јер максималну вредност достиже на ЦР4 локалитету. Кандидаткиња одсуство утицаја рибњака на анализирани биомаркере приписује бујичном току реке Црнице који је изазвао високе вредности протока у сезони узорковања.



Активности антиоксидативних ензима *G. dulensis* карактерише и лонгитудинална и сезонска варијабилност, при чему лонгитудинално варирање зависи од сезоне узорковања. Када су у питању лонгитудиналне промене, према начину промене активности уочава се подела у две групе - прву групу чине SOD и CAT чије се активности смањују на ЦР2 локалитету, а затим се постепено повећавају на низводним локалитетима ЦР3 и ЦР4. Сви анализирани биомаркери *G. dulensis* показују две заједничке карактеристике када су у питању сезонске промене. Сезонске промене активности на референтном локалитету су позитивно корелисане са онима на ЦР4 локалитету, а негативно са онима на ЦР2 локалитету. Тренд лонгитудиналних промена GST, GPx и GR сличан је у лето и зиму, а потпуно је супротан за GPx и GR у јесен, када су њихове активности достигле минимум на ЦР2 локалитету. Једино су се активности SOD и GST конзистентно мењале под утицајем различитих срединских фактора, при чему се активност SOD смањивала, а активност GST повећавала на ЦР2 у свим сезонама. CIA је показала да постоји статистички значајна ( $P < 0,042$ ) коструктура између PCA корелационе матрице активности антиоксидативних ензима *G. dulensis* и PCA корелационе матрице вредности абиотичких параметара воде. Насупрот томе, када је у питању утицај хемијског састава седимента реке Црнице, анализа коинерције је показала да не постоји статистички значајна коструктура ( $P = 0,932$ ) између PCA корелационог матрикса активности антиоксидативних ензима и PCA корелационог матрикса хемијских параметара седимента. Међутим, активности CAT у летњим и јесењим узорцима показују снажну и статистички значајну негативну корелацију са концентрацијама појединих елемената хемијског састава седимента: Zn, Cd, P, S, Ca, Cr, Ni и Sr.

Кандидаткиња у **Дискусији**, указује на потребе за оваквим истраживањем у области физиолошког биомониторинга. Детаљном анализом доступних литературних података дискутовано је и уочено да се у највећем броју случајева за мониторинг утицаја испусних вода рибњака на реципијент користе еколошке анализе заједнице макроинвертебрата. Међутим, ефекат пастрмских рибњака на живи свет ређе је испитиван на физиолошком нивоу. Када је реч о зглавкарима, а посебно о ларвама водених инсеката, оваква истраживања су на самом почетку. Дискутовано је и о примени одређених индекса диверзитета и биотичких индекса у процени утицаја загађивача на заједнице макрзообентоса, при чему су се поједини показали осетљивијим од других.

Кандидаткиња такође анализира и пореди осетљивост одабраних биомаркера код три модел организма уочавајући одређене сличности, али и разлике између самих врста и њихових антиоксидативних статуса.

У поглављу **Закључци**, сумирани су најзначајнији резултати ове студије у укупно пет целина и закључено је да:

- Сезонске промене абиотичких и биотичких фактора доминирају над лонгитудиналним, што указује на дискретан утицај пастрмског рибњака на реку Црницу.

- Праћени биомаркери, као и одабрани модел организми, показали су ефиксаним за рану детекцију присуства загађивача и промене срединских фактора. Међу њима као најосетљивији биомаркер код све три врсте издваја се промена активности GPx, који код њих представља прву линију одбране од оксидативног стреса.

- Различита осетљивост, односно неосетљивост **каталазе** код две врсте акватичних инсеката код којих није детектована активност каталазе и код јединки *G. dulensis* код кога је активна, је вероватно последица карактеристика самих врста, као што је низак антиоксидативни капацитет *E. danica*, али и филогенетска старост самог реда Ephemeroptera.

- На основу добијених резултата анализираних биомаркера код врсте *E. danica*, констатован је најјачи ефекат рибњака на промену активности GPx, који указује на највећи степен лонгитудиналних промена и утицај пастрмског рибњака у летњем и јесењем периоду. На активност SOD утицај рибњака се практично није испољио. Активност САТ није детектована, а промена концентрације GSH не показује ни лонгитудиналну ни сезонску конзистентност. За активност SOD и концентрацију GSH код *E. danica* карактеристична је веома висока позитивна корелација ( $R=0.845$ ,  $P<0.001$ ), а нешто нижа, али значајна корелација, постоји и између активности SOD и GPx ( $R=0.725$ ,  $P=0.002$ ).

- Сезонске варијације вредности ASPT, MASPT<sub>PO</sub>, и Ed<sub>ab</sub> на ЦР2 показују статистички значајну негативну корелацију са вредностима  $m_T/Q_2$  ( $R=-0.951$ ,  $P=0.049$ ,  $R=-0.955$ ,  $P=0.045$ , и  $R=-0.962$ ,  $P=0.038$ ), што указује на утицај рибњака на наведене параметре структуре заједнице макрозообентоса реке Црнице. Утицај рибњака је видљив у случају индекса сапробности (SI), чије вредности достижу максимум на ЦР2, и у случају ASPT, који достиже минимум на ЦР2 локалитету.

- Истраживање утицаја рибњака на антиоксидативни систем заштите врсте *E. venosus* у реци Црници, је показало да је одсуство промене активности SOD и промене концентрације GSH највероватније последица бујичног тока реке. Анализа варијансе је показала статистички значајно варирање између локалитета реке Црнице једино у случају активности GPx, који се издвојио као најосетљивији ензим и код ове врсте.

- Код ларви *E. venosus* узоркованих у реци Скрапеж једнофакторска анализа варијансе је показала да у случају сва три биомаркера долази до статистички значајних варирања између испитиваних локалитета и то: за активност супероксид дисмутазе (SOD),  $F=10,91$ ,  $P<0,001$ , за активност глутатион пероксидазе (GPx),  $F=4,23$ ,  $P=0,016$  и за концентрацију глутатиона (GSH),  $F=4,87$ ,  $P=0,008$ . У случају сва три биомаркера код ларви *E. venosus*, LSD тест је показао да постоји разлика између контролног и првог низводног локалитета, што је последица дејства рибњака.

- Резултати анализираних биомаркера код врсте *G. dulensis* показали су да се активности анализираних антиоксидативних ензима (SOD, CAT, GPx, GST и GR) мењају и сезонски и лонгитудинално, при чему су лонгитудиналне промене зависне од сезоне у којој су праћене.

- Најизраженије промене активности ензима код *G. dulensis* дешавају се током јесени, када се активности четири од пет испитиваних ензима (SOD, CAT, GPx и GR) смањују на првом низводном локалитету испод рибњака (ЦР2). Активности ових ензима су потиснуте услед дејства комбинације промењених срединских фактора, при чему велики утицај имају повећане концентрације тешких метала у седименту на локалитету ЦР2 током јесење сезоне.

- Активности GPx, GSH и GR код *G. dulensis* прате заједнички тренд промене, који карактерише повећање активности на ЦР2 у односу на ЦР1, са постепеним опоравком низводно.

- Сезонске промене активности свих испитиваних ензима код *G. dulensis* на референтном, ЦР1 локалитету су у позитивној корелацији са измереним активностима на ЦР4 локалитету, а у негативној корелацији са забележеним активностима праћених ензима на ЦР2 локалитету, што јасно указује негативан утицај ефлуената из пастрмског рибњака.

У поглављу **Литература**, наведено је 197 библиографских јединица које представљају најважније изворе података који су од значаја за тему ове докторске дисертације, а којим се објашњавају и/или потврђују добијени резултати. У поглављу **Прилог**, табеларно је приказан квалитативни састав заједнице макрозообентоса реке Црнице.

### **Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације**

#### **Б1. Радови у часописима међународног значаја**

1. Vranković, J., Živić, M., **Radojević, A.**, Perić-Mataruga, V., Todorović, D., Marković, Z., Živić, I. (2018). Evaluation of oxidative stress biomarkers in the freshwater gammarid *Gammarus dulensis* exposed to trout farm outputs. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 163: 84-95. [doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.061](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.061)

**M21**

2. **Radojević, A.**, Mirčić, D., Živić, M., Perić Mataruga, V., Božanić, M., Stojanović, K., & Živić, I. (2019). Influence of trout farm effluents on selected oxidative stress biomarkers in larvae of *Ecdyonurus venosus* (Ephemeroptera, Heptageniidae). *Archives of Biological Sciences*, 71(2), 225-233. <https://doi.org/10.2298/ABS181220004R>

**M23**

#### **Б3. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја**

1. **Radojević, A.**, Mirčić, D., Živić, M., Perić-Mataruga, V., Todorović, D., Božanić, M., Živić, I. (2017). Antioksidativni status larvi *Ecdyonurus venosus* (Ephemeroptera: Heptageniidae): Uticaj pastrmskih ribnjaka. XI Simpozijum entomologa Srbije 2017, sa međunarodnim učešćem, Goč, 17-21. septembar, Zbornih plenarnih referata i rezimea, 88-89 str.

**M64**

2. Božanić, M., Todrović, D., **Radojević, A.**, Perić-Mataruga, V., Živić, M., Stojanović, K., Živić, I. (2018). Aktivnost superoksid dismutaze larve *Ephemera danica* - biomarker oksidativnog stresa izazvanog otpadnim vodama pastrmskih ribnjaka. Knjiga sažetaka. Drugi kongres biologa Srbije, 25. – 30. 09. 2018. Kladovo, Srbija, pp. 309.

**M64**

3. **Tatović, A.**, Božanić, M., Živić, M., Mirčić, D., Perić Mataruga, V., Stojanović, K., Živić, I. (2019). Sezonski i longitudinalni uticaj pastrmskog ribnjaka: antioksidativna odbrana larvi *Ephemera danica* (Ephemeroptera: Ephemeridae). Simpozijum entomologa Srbije sa međunarodnim učešćem, Niš 25-29 septembar 2019, Zbornik plenarnih referata i rezimea, 3-4 pp.

**M64**

4. Božanić, M., Stojanović, K., **Tatović, A.**, Živić, I. (2022). Promena strukture i funkcije zajednice makroinvertebrata u reci Skrapež pod uticajem pastrmskog ribnjaka. Knjiga sažetaka. Treći kongres biologa Srbije, 21. – 25. 09. 2022. Zlatibor, Srbija, pp. 160.

**M64**

#### B4. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. Vranković, J., **Radojević, A.**, Živić, M., Marković, Z., Živić, I. (2017). Changes in superoxide dismutase and catalase activities of the amphipod *Gammarus dulensis* in the vicinity of the trout farm. Proceedings of the 6<sup>th</sup> Aquatic Biodiversity International Conference, Sibiu, Romania, 27-30. September 2017, Book of Abstracts, p. 21.

**M34**

## Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидаткиње **Анђелине З. Татовић (рођ. Радојевић)** послата је на софтверску проверу оригиналности дана 20. 2. 2024. године. Истог дана послат је ментору Извештај који садржи резултате провере оригиналности.

Коришћењем програма iThenticate, добијено је подударање текста од 19%. Увидом у Извештај констатовано је да се 5 % односи на препозанте речи из раније публикованих докторских дисертације сличне тематике (и то пре свега на писање назива молекуларних маркера, назива уређаја који су коришћени за хемијске анализе и одређивање ензима, назива река, описа узимање узорака...). Од преосталих 14% преклапања у Извештају, појединачна подударања по сегментима су мања од 1%, нису повезана и немају смисао, а тичу се начина писања афилијација чланова Комисије, научних звања, као и начин цитирања и писања литературе на крају тезе.

Све наведено је у складу са чланом 9. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и указује да су теренска истраживања, дизајн, резултати, дискусија и закључци докторске дисертације Анђелине З. Татовић оригинални, и да нису преузети из неког другог извора.

## Мишљење и предлог Комисије

Увидом у докторску дисертацију **Анђелине З. Татовић (рођ. Радојевић)** под насловом: „Утицај пастрмског рибњака на антиоксидативни статус одабраних врста акватичних бескичмењака“, Комисија констатује да дисертација представља оригинални научни рад који се бави утицајем испусних вода пастрмског рибњака на квалитет воде у реципијенту кроз анализу система антиоксидативне заштите три одабране врсте акватичних бескичмењака као модел организама (*E. danica*, *E. venosus* и *G. dulensis*) као и кроз анализу утицаја ефлуената на структуру и састав заједница макрозообентоса реке Црнице. Дисертација је написана са јасно дефинисаним циљевима, адекватно планираним и успешно реализованим теренским истраживањима и лабораторијским анализама. Задаци постављени у циљевима истраживања су и остварени.

Добијени резултати су показали да су коришћени биомаркери ефикасни за рану детекцију присуства загађивача и промене срединских фактора у воденим екосистемима. Међу њима се као најосетљивији биомаркер код све три врсте издваја промена активности

GRx, док је заједничко за две врсте испитиваних инсеката, одсуство каталазе што се може повезати са филогенетском позицијом реда Ephemeroptera. Такође, уочене правилности у активности анализираних ензима током различитих сезона истраживања као и дуж истраживаних локалитета представљају још један значајан допринос из области физиолошког биомониторинга. Мишљења смо и да ова дисертација представља значајан допринос познавању биодиверзитета слатководне фауне бескичмењака Србије и њиховом коришћењу у биомониторингу водених екосистема. У прилог томе су и два публикована оригинална научна рада са СЦИ листе као и пет саопштења са домаћих и међународних скупова.

На основу свега наведеног, а имајући у виду целокупну истраживачку активност кандидаткиње, постигнуте резултате и написану докторску тезу, Комисија са задовољством предложи Наставно-научном већу Биолошког факултета, Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену докторске дисертације **„Утицај пастрмског рибњака на антиоксидативни статус одабраних врста акватичних бескичмењака“** и кандидаткињи одобри јавну одбрану докторске дисертације.

**КОМИСИЈА:**

У Београду, 11. 3. 2024. године

---

др Катарина Стојановић, доцент,  
Биолошки факултет - Универзитет у Београду

---

др Зоран Марковић, редовни професор,  
Пољопривредни факултет - Универзитет у Београду

---

др Миленка Божанић, научни сарадник,  
Биолошки факултет - Универзитет у Београду