

ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ		
1. Датум и орган који је именовао комисију: Наставно-научно веће Универзитета у Новом Саду Природно-математичког факултета на 7. седници одржаној 17.03.2022. године		
2. Састав комисије у складу са <i>Правилима докторских студија Универзитета у Новом Саду</i> :		
1. др Соња Каишаревић	Редовни професор	Физиологија животиња, 01.01.2022. год.
презиме и име	звање	ужа научна област и датум избора
Универзитет у Новом Саду		председник
Природно-математички факултет		функција у комисији
установа у којој је запослен-а		
2. др Стоимир Коларевић	Виши научни сарадник	Генотоксикологија, 18.11.2019. год.
презиме и име	звање	ужа научна област и датум избора
Институт за биолошка истраживања “Синиша Станковић”, Београд, Институт од националног значаја за Републику Србију		члан
установа у којој је запослен-а		
3. др Ивана Теодоровић	Редовни професор	Заштита животне средине, 01.04.2016. год.
презиме и име	звање	ужа научна област и датум избора
Универзитет у Новом Саду		члан, ментор
Природно-математички факултет		функција у комисији
установа у којој је запослен-а		
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ		
1. Име, име једног родитеља, презиме: Дина (Геза) Тењи		
2. Датум рођења, општина, држава: 28.03.1989., Нови Сад, Србија		
3. Назив факултета, назив претходно завршеног нивоа студија и стечени стручни/академски назив: Природно-математички факултет Нови Сад, Мастер еколог		
4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија: 2013; Докторске академске студије Доктор наука – еколошке науке		
III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:		
Биомаркери код риба у мониторингу статуса акватичних екосистема и идентификацији ефеката хемијског стреса <i>in situ</i>		

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Докторска дисертација припада научној области Екологија, 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, захвалница и кључна документацијска информација на српском и енглеском језику. Докторска дисертација обима 191 стране А4 формата, почиње садржајем и резимеом на српском и енглеском језику.

Текст је подељен у 8 нумерисаних поглавља: 1. Увод, 2. Преглед литературе, 3. Циљеви, 4. Материјал и методе, 5. Резултати, 6. Дискусија, 7. Закључак и 8. Литература.

Дисертација садржи 54 слике (овим бројем су обухваћени графикони и шеме), 20 табела и 521 референцу. Након литературе следи (непагинирано) прилог (подељен у пет секција, укупно 31 прилог), биографија кандидаткиње 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 основних постулата и недостатака актуелних (био)мониторинг програма, значај и неопходност даљег развоја метода за идентификацију кључних притисака на акватичне екосистеме. Посебно су истакнути проблеми код процене утицаја загађења, односно хемијског стреса на акватичне екосистеме у мултистрес условима и потенцијал биомаркера код риба код успостављања узрочно – последичних веза између хемијског и еколошког статуса.

Комисија сматра да је уводом кандидаткиња јасно изложила проблематику истраживања и његов значај са научног аспекта и са становишта управљања стањем животне средине.

Преглед литературе

Ово поглавље је подељено у девет логичних целина, у складу са предметом, темом и циљевима истраживања.

Поглавље почиње разматрањем проблема мултистрес услова у акватичним екосистемима, са акцентом на хемијски стрес. Описана је примена различитих приступа за идентификацију и квантитацију хемијског стреса у акватичним екосистемима као и предвиђање ефеката смеша на акватичне организме који су обухваћени тренутно важећим регулаторним оквирима и предложеним ревизијама. Даље је дат преглед примене метода за процену ефеката загађења као што су биомаркери на нивоу индивидуе и *in vitro* биоаналитичке методе укључујући ефектом усмерене анализе. Посебна пажња је усмерена на потенцијал примене генске експресије као специфичних биомаркера у процени стања и утицаја загађења у мултистрес условима. Представљен је и концепт мултипараметарског приступа идентификацији утицаја хемијског стреса у акватичним екосистемима базираног на четири сета података, који укључују 1) предвиђање укупне токсичности на основу квантификованих супстанци у узорцима и њихове индивидуалне токсичности, 2) биоаналитичке технике, 3) биомаркере и 4) биомониторинг. Поред концептуалног аспекта, наведене су технике које се примењују при узимању узорака воде за хемијске и биоаналитичке методе, као и експерименталне поставке излагања модел организама за анализе биомаркера *in situ*. Посебна пажња је посвећена биомаркерима код риба које представљају модел организам коришћен у истраживањима у оквиру докторске дисертације.

Комисија констатује да је кандидаткиња подробно изучила и обрадила 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 праћења стања животне средине. Поглавље је написано систематично, јасно и са великим бројем информација које обухватају све неопходне аспекте за истраживања спроведена у дисертацији. Прегледом литературе кандидаткиња отвара простор за јасно дефинисање потреба за даљим истраживањима, развојем методологије и редифинисањем улоге биомаркера код риба.

Циљеви докторске дисертације

Имајући у виду комплексност проблематике идентификације хемијског стреса и повезивања уочених ефеката *in situ* са узроцима промена у реалним мултистрес условима, циљ ове докторске

дисертације је селекција, оптимизација и интеграција батерије физиолошких, ензимских и молекуларних биомаркера код риба у комплексни мултипараметарски дијагностички приступ за идентификацију хемијског стреса као значајног притиска на акватичне екосистеме у реалним мултистрес условима.

Истраживања у оквиру докторске дисертације су изведена у оквиру две студије случаја, на различитим просторним скалама, које су послужиле као демонстрационе вежбе агрегације широког спектра резултата анализе биомаркера код риба, различитог нивоа биолошке организације, специфичности и еколошког значаја.

Због својих специфичности, одабране студије случаја су послужиле и за унапређење теренских протокола, односно експерименталних поставки у биомониторинг програмима, процену применљивости и осетљивости *in vitro* pERK1/2 имуноесеја у анализи ефекта узорака из животне средине као и оцену стања акватичних екосистема на одабраним секторима река Дунав и Сава.

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 шест подпоглавља. Веома прегледно и јасно су описане теренске и експерименталне поставке у две студије случаја Нови Сад и Дунав, аргументован је одабир и дат опис коришћених модел врста риба, *Cyprinus carpio* за кавезну поставку, *Abramis brama* и *Alburnus alburnus* за теренска испитивања. Подробно је објашњен и рад са ћелијском културом HepG2 и *in vitro* pERK1/2 имуноесеј. Следи детаљан опис свих метода и техника коришћених за анализу биомаркера: биометријских параметара, активности одабраних ензима (укључујући поступак хомогенизације ткива, одређивања укупних протеина и мерења активности каталазе, карбоксилестеразе, глутатион-С-трансферазе и ацетилхолинестеразе) и експресије одабраних гена (преглед гена са наведеним секвенцама прајмера, поступак изолације РНК, квантификација методом RQ-PCR). Поглавље се завршава прегледом 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 експеримената на задовољавајућем нивоу.

Резултати

Поглавље је подељено у три тематске целине. Прва обухвата резултате добијене у оквиру студије случаја Нови Сад и почиње проценом укупне токсичности узорака воде са рефералних и испитиваних локалитета Дунава урађене на основу хемијских анализа и индивидуалне хроничне токсичности идентификованих супстанци. Приказани су резултати примене *in vitro* pERK1/2 имуноесеја у анализи комплексних и фракционисаних узорака сакупљених помоћу LVSPE узоркивача у сектору узводно и у зони утицаја града. Осетљивост есеја је поређена са другим биоаналитичким техникама примењеним на истим узорцима, а специфичност корелацијом са детектованим супстанцама. Даље су приказани резултати хемијских анализа биоакумулираних супстанци у ткивима шарана из кавезне поставке. Централно место заузима приказ резултата анализе експресије 18 гена (гени биомаркери општег стреса, гени укључени у ендокрину регулацију, имунски одговор, биомаркери неуротоксичности), ензимске активности и кондиционих индекса код шарана из кавезне поставке (три на реци Дунав - реферални локалитет и два локалитета у зони утицаја града Новог Сада, као и један са реке Саве у зони утицаја града Шапца). Студија случаја Нови Сад завршава приказом резултата анализе биомаркера код јединки деверике из природних популација са рефералног подручја Горње Подунавље и сектора Дунава у зони утицаја града Новог Сада. Батерија биомаркера је обухватила кондиционе факторе, активност четири ензима (каталазе, карбоксилестеразе, глутатион-С-трансферазе и ацетилхолинестеразе) и експресију 15 гена (гени биомаркери општег стреса, гени укључени у ендокрину регулацију, имунски одговор, биомаркери неуротоксичности). Друга тематска целина обухвата приказ резултата експресије гена код јединки *Alburnus alburnus* сакупљених током ЈДС 3 кампање са десет локација и резултате проширене батерије гена на три локалитета на сектору Дунава кроз Србију. Трећа тематска целина представља демонстрацију агрегације одговора биомаркера (израчунавање просечног одговора биомаркера - АБР индекса) за обрађене локалитете и интеграцију АБР индекса у дијагностички мултипараметарски систем.

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 и закључке.

Дискусија

Добијени резултати упоређени су са доступним резултатима других истраживања која се баве истом или сличном проблематиком, уз критички осврт на резултате ове дисертације и резултате других истраживања. Сва представљена образложења су у складу са савременим научним знањима и практичним потребама процене стања акватичних 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, кандидаткиња је, сходно тематици, проучила и цитирала званичне извештаје о стању квалитета воде реке Дунав, регулаторне документе Европске Уније и Србије из области интегрисаног управљања водним ресурсима и заштитом животне средине. Познавање проблематике стечено прегледом наведених литературних извора, кандидаткиња 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:

Tenji D., Micic B., Sipos S, Miljanovic B., Teodorovic I., Kaisarevic S. (2020) Fish biomarkers from a different perspective: evidence of adaptive strategy of *Abramis brama* (L.) to chemical stress. *Environmental Sciences Europe*, 32, 47. Doi 10.1186/s12302-020-00316-7. (M21, IF 5.893)

Kaisarevic S., Vulin I., **Tenji D.**, Tomic T, Teodorovic I. (2021) Approaches, limitations and challenges in development of biomarker-based strategy for impact assessment of neuroactive compounds in the aquatic environment. *Environmental Sciences Europe*, 33, 115. Doi 10.1186/s12302-021-00557-0 (M21, IF 5.893)

Jovanović Marić J., Kračun-Kolarević M., Kolarević S., Sunjog K., Kostić-Vuković J., Deutschmann B., Hollert H., **Tenji D.**, Paunović M., Vuković-Gačić B. (2020) Selection of assay, organism, and approach in biomonitoring significantly affects the evaluation of genotoxic potential in aquatic environments. *Environmental Science and Pollution Research* 27, 33903–33915. doi 10.1007/s11356-020-09597-0 (M22, 4.223)

Kaišarević S, **Tenji D.** Deutschmann B, Seiler TB, Teodorović I, Hollert H, Brack W. (2016) Expression of stress-induced hepatic genes in *Alburnus alburnus* (L.) from the river Danube – Challenges in assessment of chemical stress. 30th ESCPB Congress, Unraveling complexity: from molecules to ecosystems, Barcelona, 4-7th September 2016. Book of abstracts: p142 (M34)

Tenji D. Šipos Š, Mičić B, Knežević V, Kaišarević S, Teodorović I. (2017) Expression of stress and endocrine disruption related genes in liver of caged common carp (*Cyprinus carpio* (L.) Cyprinidae) – assessing *in situ* effects of untreated sewage into the River Danube., 1st Congress of Molecular Biologists of Serbia CoMBoS, with international participation. Belgrade, Serbia, 20. - 22. Sep, 2017. Book of abstracts: p81 (M64)

Kaišarević S, **Tenji D.** Šipoš Š, Mičić B, Deutschmann B, Seiler TB, Velki M, Hollert H, Brack W, Teodorović I. (2017) Prominent role of physiology in human health and environmental risk assessment: lessons learned from the FP7 project SOLUTIONS., Joint Meeting of National Serbian and Hungarian Physiological Societies “New Perspectives in Physiological Research – Young Investigator Forum”. Društvo fiziologa Srbije, Subotica, Serbia, 25. - 27. May, 2017. Abstract book p. 50. (M64)

Tenji D. Šipoš Š, Mičić B, Knežević V, Kaišarević S, Teodorović I, Brack W. (2017) *In situ* effects of

untreated sewage discharged into the River Danube: expression of selected genes in livers of caged common carp. SETAC Europe 27th annual meeting, Brussels, Belgium, 7-11th May 2017. Abstract Book p268-WE172 (M34)

Tenji D. Mičić B, Knežević V, Kaišarević S, Teodorović I (2018) Fish caging experiment as a tool for detection of *in situ* effects of untreated wastewaters: General stress and endocrine disruption. SETAC Europe 28th Annual Meeting, Rome, Italy, 13-17 May 2018. Abstract book p198, Abstract MO258. (M34)

Mičić B, **Tenji D.** Šipoš Š, Knežević V, Kaišarević S, Teodorović I (2018) Fish caging experiment as a tool for *in situ* assessment of neurotoxic effects of untreated wastewaters. SETAC Europe 28th Annual Meeting, Rome, Italy, 13-17 May 2018. Abstract book p491, Abstract MOPC01. (M34)

Tenji D. Kaisarevic S, Mičić B, Stanić B, Tomić T, Andrić N, Teodorović I (2018) Fixed-cell based phospho-ERK1/2 ELISA as a signaling-based *in vitro* tool in detection of ERK1/2 disrupting effects of environmental mixtures. 11th BioDetectors Conference 2018., Aachen, Germany, 13-14 September 2018. Abstract book pp 45-46. (M34)

Tenji D. Vulin I, Palanetić M, Tomić T, Teodorović I, Kaišarević S (2021) Key elements of neurotransmitter pathways as biomarkers of effect of neuroactive compounds with different primary mode of action. 56th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2021), 27. September – 1. October 2021, congress in virtual format. Abstract book p577-578, Abstract P02-14. (M34)

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА:

На основу резултата истраживања приказаних у докторској дисертацији, изведени су следећи закључци.

Истраживања су спроведена у две, према просторној скали, другачије студије случаја – локалној студији случаја Нови Сад и студији случаја Дунав на широј просторној скали. Биомаркери различите специфичности и еколошке релевантности, одабрани су тако да припадају различитим нивоима биолошке организације, – од *in vitro* биоесеја, преко експресије одабраних гена и активности ензима који учествују у кључним процесима детоксификације, до интегративних физиолошких одговора у виду кондиционих фактора. Докторска дисертација је урађена у оквиру ФП 7 пројекта Solutions, што је омогућило да резултати сопствених истраживања буду допуњени значајном количином података других истраживача на истим студијама случаја. Овакав приступ омогућио је оптимизацију батерије биомаркера, агрегацију добијених одговора одабраних биомаркера у јединствен индекс (АБР индекс), интеграцију АБР индекса у мултипараметарски систем за процену утицаја хемијског стреса у акватичним системима, као и проверу робусности система на конкретним истраживаним локалитетима, у различитим експерименталним поставкама.

Резултати до којих се дошло радом на обе студије случаја, у обе експерименталне поставке *in situ*, показују да се одговори свих одабраних биомаркера код риба, од експресије гена, преко активности ензима до кондиционих фактора, карактеришу високом варијабилношћу унутар експерименталне групе, што неповољно утиче на статистичку снагу хипотезних тестова и онемогућава тумачења резултата само на основу статистичке разлике у одговорима код јединки са различитих локалитета.

На основу добијених, али и бројних претодно публикованих резултата, закључено је да још већи проблем представља чињеница да одговори биомаркера немају јединствен образац понашања, односно, смер промене појединачних биомаркера није увек исти. Из овако диспергованих резултата није једноставно закључити о потенцијалним ефектима хемијског стреса *in situ*, што се од биомаркера очекује. Како би резултати анализе батерије биомаркера били информативни и применљиви као интермедијарни сет података који треба да повеже хемијски и еколошки статус, допринесе расветљавању узрочно-последичних веза између загађења и статуса животних заједница и процени екосистемског утицаја хемијског стреса, развијен је и примењен транспарентан, једноставан и статистички утемељен поступак интеграције свих одговора биомаркера у јединствену нумеричку вредност – просечни одговор биомаркера (Индекс АБР). Робусност и универзалност АБР индекса је показана на примеру две експерименталне поставке у студији случаја Нови Сад. Батерије биомаркера нису биле идентичне, што није утицало значајно на вредност АБР, ни на његову

интерпретацију. Уз предложену класификациону шему, АБР индекс представља један од четири кључна елемента мултипараметарског система за процену утицаја хемијског стреса у акватичним екосистемима, који укључују и процену укупног токсичног притиска на основу концентрација квантификованих супстанци и њихове индивидуалне токсичности, резултате биоанализа и резултате биомониторинга састава и структуре животних заједница одабраног рецептора.

Мултипараметарски систем за процену утицаја хемијског стреса у акватичним екосистемима се показао као веома ефикасан систем за интеграцију резултата добијених анализом великог броја параметара. Резултат мултипараметарске анализе показује да загађење које доспева путем непречишћених отпадних вода града Новог Сада, упркос огромном разблажењу и великом потенцијалу самопречишћавања, представља значајан притисак на Дунав. На широј просторној скали, мултипараметарска анализа је, на првом месту захваљујући биоанализама и биомаркерима, јасно раздвојила локалитете на Дунаву на којима загађење представља значајан притисак и узрок евидентираних негативних промена на нивоу састава и структуре ихтиофауне са једне и са друге стране, локалитете на којима се узроци промена морају тражити у другим типовима притисака. Јасно постављени циљеви, адекватна експериментална поставка и транспарентна процедура обраде података, јасан и једнозначан нумерички исказ на изглед дисперзних, неконзистентних резултата великог броја анализа обезбеђују поузданост и поверење у резултате. Студије случаја су показале да мултипараметарски систем омогућава веома погодан, једноставан и информативан начин комуникације добијених информација са управљачким структурама, надлежним органима и широм јавности.

Студија случаја Дунав указала је на нека ограничења и недостатке мултипараметарског приступа на широј просторној скали. Недостатак података о хроничној токсичности великог броја детектованих супстанци условљава предвиђање токсичности узорка на основу доступних података о акутној токсичности или моделованих вредности хроничне токсичности, чиме се по правилу прецењује укупна токсичност узорка, односно интензитет хемијског стреса. Код маршрутних и мониторинг програма великих река (и сливних подручја) посебан проблем представља идентификација рефералног локалитета односно рефералних услова, што је кључно код анализа одговора биомаркера. Студија случаја Нови Сад показала је да строго заштићене зоне, без директног антропогеног утицаја, пружају могућност за добијање рефералних вредности, односно, поузданих података о базалној експресији гена и уобичајеним нивоима активности кључних ензима који чине стандардне батерије биомаркера. Намеће се закључак да би при планирању мониторинг програма на широј просторној скали, мрежу локалитета требало проширити барем једним локалитетом у строго заштићеним подручјима које насељавају врсте одабране за анализу биомаркера. Алтернативно, у недостатку адекватног рефералног локалитета, било би корисно дефинисање опсега одговора за биомаркере за најчешће коришћене врсте. Истраживања у оквиру ове дисертације су обезбедила прелиминарне податке о базалној експресији великог броја гена и опсезима варирања активности ензима који учествују у детоксификацији код врста *A. brama*, *A. alburnus* и *C. carpio*, који могу бити значајни у биомониторинг истраживањима где недостаје јасан градијент загађења и/или реферални услови, односно реферални локалитет.

Поред доприноса развоју и валидације АБР индекса и мултипараметарског система за процену утицаја хемијског стреса у акватичним екосистемима, рад на овој докторској дисертацији, посебно на локалној студији случаја, упућује и на друге специфичне закључке.

Резултати анализе биомаркера код јединки риба из природних популација истичу значај новоидентификованих улога различитих гена и протеина који су уобичајено сматрани биомаркерима ефекта, показујући да промене у овим параметрима не морају нужно указивати на погоршање здравља јединки риба. Ове промене, које се детектују у стабилним популацијама риба би се требале тумачити као адаптивни одговор на хемијски стрес, пре него директан доказ еколошког утицаја загађења *in situ*. Адаптивна стратегија *A. brama* у борби против хемијског стреса се доминантно заснива на високо ефикасним антиоксидативним системима заштите у јетри и мозгу, високом биотрансформационом капацитету јетре и активацији механизма који обезбеђују енергетске потребе и компензују метаболички утрощак при одговору организма на загађење.

Применом кавезне поставке излагања јединки *C. carpio*, као најосетљивији ензимски параметар који указује на активацију одбране организма од оксидативног стреса се показала активност ензима каталаза у јетри јединки, док су међу анализираним генима најосетљивији били параметри имуног одговора и аутофагије као и биомаркери неуротоксичности, међу којима се посебно истакао ген за базни протеин мијелина, што наводи на закључак да би батерије биомаркера и биоесеја које се користе у биомониторингу требале да укључују параметре који покривају најважније начине деловања супстанци које су еколошки релеванте. Посебно место у батерији биомаркера припада анализи експресије специфичних гена који представљају најраније индикаторе активирања специфичних сигналних путева односно одговора на присуство загађујућих материја веома специфичног механизма токсичног деловања. Значајне разлике у броју идентификованих неуроактивних супстанци и њиховим концентрацијама у мишићном ткиву и серуму јединки *C. carpio* из кавезног система излагања на локалитетима под непосредним утицајем отпадних вода града Новог Сада у односу на јединке са рефералног локалитета су указале на њихову заступљеност међу полутантима пореклом из комуналних отпадних вода, а заједно са одговорима биомаркера неуротоксичности отвориле нова питања која су усмерила даљи ток истраживања на биомаркере неуротоксичних ефеката. Потенцијал примене биомаркера у наредним истраживањима се огледа и у њиховој интеграцији у путеве негативних исхода (АОП), чиме би се одговори биомаркера могли повезивати са могућим негативним исходима на индивидуалном и популационом нивоу чиме би се повећала њихова дијагностичка моћ за еколошку процену ризика.

На крају, *in vitro* биоесеј ELISA за квантификацију фосфо-EPK1/2 у HepG2 ћелијама се показао као потенцијално користан алат за мониторинг ефекта загађења у акватичним екосистемима. Представља методу средње до високе ефикасности и има задовољавајућу осетљивост, па је њиме могуће детектовати одговор при третману комплексним узорцима из животне средине који садрже једињења која утичу на EPK1/2 сигнални пут. Ограничење ове методе, као самосталног алата представља ниска специфичност EPK1/2 сигналног пута на који може утицати велики број супстанци са различитим начинима деловања, па се његов потенцијал огледа у примени са комплементарним методама у оквиру комплексних батерија *in vitro* биоесеја.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА:

На основу прегледа и анализе докторске дисертације Комисија сматра да је докторска дисертација добро конципирана и структурирана и урађена у складу са темом дисертације, планом и циљевима предвиђеним у пријави теме. Кандидаткиња је експерименте добро испланирала и урадила 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 фокусирана и јасна у одбрани заузетих ставова. 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 5%. Увидом у Извештај о тестирању на плагијаризам Комисија констатује да је кандидат адекватно цитирао сву коришћену литературу.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE 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.

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 кандидаткиња препознала и уважила приликом планирања и израде дисертације.

Докторска дисертација представља допринос развоју система за биомониторинг заснованог на биомаркерима код риба са циљем примене у оперативним али и истражним мониторинг програмима акватичних екосистема.

Докторска дисертација представља и допринос даљој афирмацији методологије базиране на биомаркерима ефекта у процени квалитета водних ресурса и еколошког стања акватичних екосистема у циљу превенције и карактеризације еколошког ризика и побољшања мера заштите природних екосистема и здравља људи. Посебна пажња је посвећена важној улози генске експресије у оптималној батерији биомаркера код риба као раног сигнала упозорења о присуству и ефектима загађујућих супстанци специфичног механизма токсичног деловања.

4. Који су недостаци дисертације и какав је 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 наведеног, комисија предлаже:

Комисија предлаже да се докторска дисертација под насловом „Биомаркери код риба у мониторингу статуса акватичних екосистема и идентификацији ефеката хемијског стреса *in situ*“ **прихвати**, и да се кандидату Дини Тењи **одобри одбрана**.

Нови Сад, 18.04.2022.

1. др Соња Каишаревић,
редовни професор, председник

2. др Стоимир Коларевић,
виши научни сарадник, члан

3. др Ивана Теодоровић,
редовни професор, члан, ментор