

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовано комисију: Комисију је именovalo Наставно-научно веће Природно-математичког факултета у Новом Саду, на својој II седници, одржаној 15.11.2018. године.</p>
<p>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:</p> <ul style="list-style-type: none">• др Слободанка Пајевић, редовни професор, уже научна област Физиологија биљака, изабрана у звање 23. новембра 2007. године, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, председник• др Наташа Николић, ванредни професор, уже научна област Физиологија биљака, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, изабрана у звање 20. новембра 2014. године, ментор• др Саша Орловић, редовни професор, уже научна област Генетика и оплемењивање шумског и украсног дрвећа, изабран у звање 02. јуна 2010. године, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду, члан• др Андреј Пилиповић, научни сарадник, уже научна област Генетика и оплемењивање шумског и украсног дрвећа, изабран у звање 29. маја 2013. године, Институт за низијско шумарство и животну средину, Универзитет у Новом Саду, члан• др Милан Боришев, ванредни професор, уже научна област Физиологија биљака, изабран у звање 05. јула 2016. године, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, члан
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Данијела, Драгољуб, Арсенов</p>
<p>2. Датум рођења, општина, држава: 14.09.1988. Зрењанин, СР Србија</p>
<p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив: Природно-математички факултет, Мастер академске студије биологије, Мастер биолог</p>
<p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија: 2012. године, Докторске академске студије биологије, Доктор наука – биолошке науке</p>
<p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: -</p>
<p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: -</p>

III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Физиолошки аспекти потенцијала врба (*Salix spp.*) у асистираној фиторемедијацији кадмијума употребом лимунске киселине

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

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

Дисертација припада научној области Биологија, ужа научна област Физиологија биљака. Написана је на српском језику (латиница), а извод је дат на српском и енглеском језику. Дисертација је обима 158 страна и подељена је у 8 поглавља: 1. Увод, 2. Циљ истраживања, 3. Материјал и методе рада, 4. Резултати истраживања, 5. Дискусија, 6. Закључак, 7. Литература, 8. Прилог. Дисертација садржи 292 литературних цитата, 25 табела, 13 слика, 30 графикона. Након дела који се односи на прилог, наведени су биографија кандидата и кључне документацијске информације. Испред основног текста налази се, без нумерације, наслов, садржај рада, листа илустрација и листа табела.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Наслов.

Наслов докторске дисертације је коректно и прецизно формулисан. Одражава предмет, циљ и садржај истраживања.

Увод.

Уводни део садржи кратак приказ основних научних сазнања у области загађења животне средине тешким металима, посебно кадмијумом (Cd). Образлаже се штетна улога овог тешког метала на поједине биолошке процесе, са освртом на адаптивни метаболизам биљака. Детаљно се наводе постојећи проблеми у ремедијацији загађених станишта, актуелне могућности примене различитих метода фиторемедијације, као и могућност употребе лимунске киселине као хелатора у асистираној фиторемедијацији/фитоекстракцији. Кроз потпоглавље Преглед литературе, детаљно су објашњени механизми заштите и адаптације биљака на стрес изазван тешким металима. Досадашња сазнања и будући изазови су јасно и логички изложени у складу са темом истраживања. Део овог поглавља фокусиран је на значај индикаторских параметара лабораторијских анализа и специфичних физиолошких маркера који се могу сматрати адекватним у процени потенцијала врба у асистираној фиторемедијацији применом лимунске киселине. Анализом овог поглавља Комисија констатује да је кандидаткиња адекватно и темељно обрадила досадашња научна достигнућа у области утицаја кадмијума на физиолошке процесе у биљкама. На основу анализе постојећих научних сазнања, кандидаткиња је изложила и описала најважније научне резултате неопходне за постављање јасно дефинисаног циља докторске дисертације.

Циљ.

Циљеви докторске дисертације су јасно и коректно дефинисани у складу са актуелним истраживањима у области. Програм и динамика истраживања постављени су у логичан след. Јасно су дефинисане потребне методе неопходне за добијање научних и апликативних резултата. Предвиђен је конкретан научни и потенцијални комерцијални допринос који се очекује кроз реализацију постављених циљева.

Материјал и методе

У овом поглављу детаљно је описана поставка експеримената, примењене методе гајења, временска динамика експерименталних активности, методе узорковања биљног материјала, лабораторијске аналитичке методе узорака биљака, као и методе статистичке обраде података.

Резултати истраживања.

Резултати истраживања представљени су систематично у складу са временском динамиком истраживања. На основу добијених резултата утврђен је утицај различитих концентрација кадмијума на морфолошке и физиолошко-биохемијске карактеристике одабраних клонова врба, као и њихова ефикасност у деконтаминацији алкалних земљишта у условима природне и асистиране фиторемедијације. Приказ резултата је методички адекватан, систематичан и јасно изложен. У циљу утврђивања нивоа статистичке значајности разлика добијених између анализираних параметера контролних и генотипова врба тестираних на специфичне третмане, урађена је двофакторијална анализа варијансе (two-way ANOVA). Фокус лабораторијских анализа стављен је на физиолошко-биохемијске индикаторе, као и на тестове фитоекстракције, који подразумевају анализу процеса усвајања и акумулирања кадмијума у врбама, као и најважнијих метаболичких промена који се

испољавају током стреса изазваног присуством Cd у биљном ткиву. Резултати добијени овим анализама указали су на ефикасност употребе лимунске киселине као хелатора кадмијума у земљишту. Такође, у овом поглављу представљена је и анализа и тумачење добијених података на основу мултиваријантне анализе главних компоненти (PCA).

Дискусија.

Комисија сматра да је Дискусија добро вођена, тако да је адекватно пратила тему, циљеве и добијене резултате. У овом поглављу дата је обимна и аналитичка анализа добијених резултата и њихово тумачење на основу поређења са резултатима радова бројних аутора који су се бавили проблематиком утицаја тешких метала на различите метаболичке процесе биљака. Извршена је анализа морфолошких и основних исходних физиолошких ефеката деловања кадмијума на одређене биљне врсте. Наглашен је значај биопродукције као фундаменталног индикатора ефикасног процеса фитоекстракције. Анализирани су параметри фотосинтезе и водног режима. Указано је на значај специфичних биохемијских процеса и метаболичких индикатора за прецизно и научно засновано дефинисање бројних токсичних ефеката које тешки метали изазивају на ћелијском нивоу. Анализирани су биохемијски адаптациони механизми који повећавају толерантност биљака у условима стреса индукованог присуством тешких метала и посебно, кадмијума у биљним ћелијама. У овом поглављу је уз коришћење најновијих референци извршена научна анализа метаболизма/физиологије минералне исхране биљака са посебном освртом на усвајање, транспорт и акумулирање тешких метала. Комисија стога сматра да је Дискусија написана у складу са дефинисаним циљевима, систематично, аргументовано и научно утемељено.

Закључак.

У оквиру овог поглавља јасно и систематично су приказани закључци који директно проистичу из резултата истраживања и њиховог описивања и коментарисања поређењем са релевантним научним изворима. Наведени закључци, научно утемељени и са статистичком значајношћу потврђени, упућују на оцену Комисије да су остварени сви постављени циљеви докторске дисертације.

Литература.

Укупно 292 литературне јединице из водећих међународних часописа, омогућиле су кандидату увид у савремене трендове истраживања физиолошких адаптација дрвенастих врста на стрес изазван тешким металима. Литература је цитирана на одговарајући начин, а избор референци је примерен тематици која је предмет ове дисертације.

Прилог.

Прилог садржи табеле које приказују матрице корелација између анализираних параметара (морфолошких и физиолошко-биохемијских) и акумулације Cd у младим листовима сваког анализираниг клона.

Комисија констатује да су сва поглавља написана на адекватан начин и 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

M22 – Рад у истакнутом међународном часопису

1. **Arsenov, D.**, Zupunski, M., Borisev, M., Nikolic, N., Orlovic, S., Pilipovic, A., Pajevic, S. (2017): Exogenously Applied Citric Acid Enhances Antioxidant Defense and Phytoextraction of Cadmium by Willows (*Salix* spp.), *Water Air Soil Pollut*, 228:221.

M13 – Монографска студија/поглавље у књизи M11 или рад у тематском зборнику

2. Borišev, M., Pajević, S., Nikolić, N., Pilipović, A., **Arsenov, D.**, Župunski, M. (2018): Mine site restoration using sylvicultural approach In: *Bio-Geotechnologies for Mine Site Rehabilitation* (Prasad, M.N.V., Favas, P.J.C., Maiti, S.K. Eds.). pp. 115-131. Elsevier publisher, ISBN: 978-0-12-812986-9. M13
3. Župunski, M., Pajević, S., **Arsenov, D.**, Nikolić, N., Pilipović, A., Borišev, M. (2018): Insights and Lessons Learned From the Long-Term Rehabilitation of Abandoned Mine Lands—A Plant Based

Approach approach In: Bio-Geotechnologies for Mine Site Rehabilitation (Prasad, M.N.V., Favas, P.J.C., Maiti, S.K. Eds.). pp. 215-233. Elsevier publisher, ISBN: 978-0-12-812986-9.

M53 – Рад у научном часопису

4. **Arsenov, D.**, Nikolić N., Borišev, M., Župunski, M., Pajević, S. (2016): Morpho-physiological traits in *Salix* clones under cadmium stress, *Évkönyv*, 104-115.

M34 – Саопштење са међународног скупа штампано у изводу

5. Nikolić, N., **Arsenov, D.**, Borišev, M., Pajević, S., Orlović, S., Župunski, M., Pilipović, A. (2014): Phytoremediation potential of willow trees for cadmium contaminated soil using citric acid. *Forest and Sustainable Development, Braşov, Romania, Book of Abstracts: 75-76.*
6. **Arsenov, D.**, Nikolić, N., Borišev, M., Župunski, M., Pajević, S., Orlović, S., Pilipović, A. (2015): Cadmium phytoextraction using willow clones (*Salix* spp.) – effect of citric acid as chelating agent. 2nd International Conference on Plant Biology, 21st Symposium of the Serbian Plant Physiology Society, COST ACTION FA1106 QUALITYFRUIT Workshop, Petnica Science Center 17-20 June, 2015. The Book of Abstracts p. 155-156. ISBN: 978-86-912591-3-6. Serbian Plant Physiology Society, Institute for Biological Research “Siniša Stanković”, University of Belgrade
7. **Arsenov, D.**, Župunski, M., Borišev, M., Pajević, S., Orlović, S., Pilipović, A., Nikolić, N. (2016): Antioxidative response of *Salix* spp. in citric acid assisted phytoremediation of cadmium. *Plant Biology Europe EPSO/FESPB Congress, 26-30 June, Prague, Czech Republic.* <http://www.europlantbiology2016.org>
8. **Arsenov, D.**, Župunski, M., Nikolić, N., Borišev, M., Orlović, S., Pilipović, A., Kebert, M. (2018): Citric acid as a soil amendment in Cd removal by *Salix viminalis* L. The 15th International Phytotechnology Conference, Novi Sad, Serbia October 1-5. *Book of Abstracts*, p. 38. ISBN 978-86-912323-9-9. Institute of Lowland Forestry and Environment, University of Novi Sad.

На основу резултата добијених радом на докторској дисертацији комисија констатује да је кандидаткиња испунила прописане услове за одбрану докторске дисертације.

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу истраживања акумулације кадмијума у различитим клоновима врба у циљу дефинисања њиховог потенцијала за примену у фиторемедијацији/фитоекстракцији и добијених резултата који се односе на бројне морфолошке и физиолошко-биохемијске параметаре, изведени су закључци:

Биодоступност јона Cd у земљишту типа флувисол је била веома лимитирана високом pH вредношћу, док апликација лимунске киселине, као и додаток тресета могу довести до повећања биодоступности јона овог метала и тиме утицати на успешнију фиторемедијацију умерено загађеног земљишта.

Дистрибуција Cd у зависности од биљног органа/ ткива је зависила од одабраног клона и примењеног третмана. У првом експерименту највећи садржај Cd је констатован у младим листовима *S. viminalis* и *S. matsudana*, док су сукцесивна примена лимунске киселине и додаток тресета допринели повећаном усвајању Cd, али и задржавању овог метала на нивоу корена. Код врсте *S. alba* (клон В-44) највећи проценат усвојеног Cd је регистрован на нивоу корена, те је код ове врсте забележена најмања транслокација у надземне органе. Упоредном анализом одабраних клонова утврђено је да је највећи садржај Cd регистрован у младим листовима *S. matsudana*, истовремено овај клон се одликовао најмањим садржајем Cd у корену.

Поређењем биоконцентрацијског фактора (BF) израчунатих за корен и надземне органе, утврђено

је знатно повећање вредности овог фактора надземних делова биљака у односу на BF корена, без обзира на анализирани клон и примењени третман. Примена лимунске киселине је показала сигнификантан утицај на повећање транслокацијског фактора (Tf) код *S. viminalis*, код *S. alba* примена овог хелатора је довела до благог повећања Tf, док код *S. matsudana* примена лимунске киселине није показала позитиван утицај на транслокацију Cd из корена у надземне делове биљака.

Примењени третмани екстерно додатог Cd нису довели до појаве фитотоксичности, те нису утврђени видљиви симптоми стреса, попут хлорозе и некрозе, те се намеће закључак да су анализирани клонови врба резистентни на умерену загађеност земљишта. Сигнификантно смањење анализираних морфолошких карактера (маса и површина листова, маса корена, висина и пречник изданка) утврђено је при већој примењеној дози Cd (6 мг/кг земљишта).

Највећи степен редукције раста и биомасе у условима повишених концентрација Cd утврђен је код *S. alba* у поређењу са осталим анализираним врстама. Такође, код ове врсте је утврђена и најмања вредност индекса толеранције (TI). На основу добијених вредности параметра TI, анализирани клонови се могу дефинисати као умерено-(*S. alba*) до високо толерантни на примењене дозе Cd. Додатак лимунске киселине је довео до повећања индекса толеранције код *S. viminalis* и *S. alba* при већој примењеној дози Cd (L+Cd6), док је код *S. matsudana* стимулативан ефекат овог хелатора утврђен на третману L+Cd3.

Сигнификантно смањење параметара размене гасова, интензитета фотосинтезе и транспирације, као и ефикасности коришћења воде утврђено је у условима повишених концентрација Cd. Међутим, примена тресета и сукцесивна апликација лимунске киселине допринели су смањењу фитотоксичности Cd, што је утицало на ефикаснију активност фотосинтетичког апарата, у поређењу са третманима нехелатираним Cd.

Примењени третмани Cd су довели до повећања акумулације аминокиселине пролина, посебно у младим листовима, док је највећа продукција утврђена код *S. alba*.

Сигнификантно повећање садржаја водоник-пероксида (H_2O_2) утврђено је у младим и старим листовима биљака које су биле изложене повећаним концентрацијама Cd. Највећи садржај овог реактивног/оксидативног продукта метаболизма је регистрован код *S. matsudana*, што је позитивно корелисано са повећаном пероксидацијом липида, која је детектована на основу високе продукције малондиалдехида (MDA). Резултати ове тезе су показали и да је апликација лимунске киселине допринела смањењу садржаја H_2O_2 у биљном ткиву, у односу на исти третман нехелатираним Cd, уз истовремено смањење пероксидације липида.

Присуство Cd у биљном ткиву узрокује оксидативни стрес и доводи до активације механизма одбране и промене активности различитих антиоксидативних ензима. Током овог истраживања утврђено је да постоје разлике у активности антиоксидативних ензима (каталазе, аскорбат-пероксидазе, гвајакол-пероксидазе и глутатион-с-трансферазе) у зависности од анализираних клонова, примењеног третмана, као и од старости листова. Примена лимунске киселине може донекле модификовати биолошки одговор биљака у условима повећаних концентрација Cd, тако што смањује токсичност јона Cd променом активности компонената антиоксидативног система заштите. Утицај овог хелатора зависи од анализираних генотипа, као и од концентрације тешких метала.

Резултати добијени у овом истраживању су показали сигнификантно повећање садржаја редукованог глутатиона (GSH), што је било праћено трендом повећања садржаја Cd у биљном ткиву. Оваква метаболичка реакција биљака указује на високу ефикасност одабраних клонова врба у ћелијском одговору на стрес индукован присуством Cd. Упоредном анализом добијених резултата утврђено је да је највећа продукција GSH регистрована код *S. alba*, што је било позитивно корелисано са повећањем садржаја укупних тиола, као и концентрације аминокиселине цистеина која је регистрована код ове врсте.

На основу свеобухватних анализа и различитих критеријума могуће је извршити одабир и селекцију клонова који се карактеришу највећим потенцијалом за процес фиторемедијације.

Резултати овог истраживања су показали да анализирани клонови поседују генотипску специфичност посматраних морфололошких и физиолошко-биохемијских особина у условима повишених концентрација Cd у земљишту, те би се клонови SV068 (врста *S. viminalis*) и SM4041 (врста *S. matsudana*) могли издвојити као генотипови погодни за процес фиторемедијације. Апликација лимунске киселине се може сматрати адекватном амелиоративном мером која доприноси повећању биодоступности јона Cd у алкалном земљишту, а самим тим и ефикаснијем уклањању тешких метала. Такође, предност се даје сукцесивној апликацији у односу на једнократни третман овом киселином. Примена лимунске киселине утицала је на биолошки одговор биљака у присуству Cd у ћелији, кроз модификацију физиолошко-биохемијских процеса и појачану активацију механизма одбране.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Велики број представљених експерименталних резултата у тези је успешно систематисан у логичке целине. Експеримент је адекватно и темељно испланиран и коректно структуриран. Резултати истраживања су логички и аналитички изложени. Извршена је адекватна статистичка обрада добијених података. Тумачење резултата је рађено уз аргументовано и критичко упоређивање са актуелним литературним подацима. На основу слојевите и научно утемељене дискусије изведени су закључци који дају одговоре на задатке и циљеве постављене у пријави ове докторске дисертације. Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачења резултата истраживања.

Напомена: докторска дисертација је прошла проверу оригиналности применом софтвера за детекцију плагијаризма iThenticate, који је показао да је „similarity index“ износи 4% (према упуству произвођача све вредности испод 15% представљају оригиналан научни рад).

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

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

Комисија оцењује да је докторска дисертација урађена и написана у складу са образложењима наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе?

Комисија јединствено оцењује да докторска дисертација садржи све неопходне елементе. Тема истраживања је јасно и концизно формулисана. Постојећа истраживања су адекватно анализирана у уводном делу. Указано је на актуелност и апликативну димензију истраживања, те је дефинисан циљ у складу са постављеном динамиком лабораторијског и експерименталног рада. Дат је детаљан приказ примењених метода и систематичан приказ добијених резултата. Изведени су јасни и конкретни закључци који дају одговоре на питања и задатке дефинисане у циљу истраживања. Списак литературе је написан у складу са важећим правилима цитирања научних резултата.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци?

Комисија сматра да добијени резултати, те научно образложени закључци дају оригиналан допринос научном истраживању у области Физиологија биљака из више разлога. У литератури готово да не постоје доступни референтни подаци о употреби лимунске киселине у процесу асистираних фиторемедијација употребом дрвенастих врста. Стога су добијени резултати веома значајни са аспекта дефинисања потенцијала употребе овог хелатора у асистираној фиторемедијацији применљивој на генотиповима врбе (*Salix spp*). Показано је да примена лимунске киселине има утицај на усвајање, акумулацију и толерантност врба гајених у умерено загађеном земљишту кадмијумом, те резултати имају практичан значај у дефинисању стратегија за ефикасну и

економски исплативу деконтаминацију загађених подручја. Резултати анализе физиолошких и биохемијских параметара у корелацији са бројним резултатима биолошких и еколошких анализа указују на поједине специфичне адаптивне реакције различитих клонова врба које се испољавају већ на ћелијском нивоу. Тиме теза доприноси расветљавању метаболичких (биохемијских и физиолошких) механизма детоксификације, толеранције и адаптације биљака на повећано присуство тешких метала. Дискусија и закључци дисертације представљају научно-критички осврт на специфичне метаболичке процесе у биљкама изложеним утицају повећаних концентрација кадмијума, што доприноси формирању јасније слике комплексних метаболичких процеса. Такође, може се истаћи и значајни допринос тезе у дефинисању поуздане методологије за планирање ефикаснијих будућих научно-истраживачких експеримената у овој научној области.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Комисија је мишљења да ова докторска дисертација не садржи недостатке који би умањили њен оригинални научни допринос развоју науке у области биологије, односно (еко) физиологије биљака.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

На основу наведеног, Комисија предлаже да се **прихвати позитивна оцена** докторске дисертације под насловом „Физиолошки аспекти врба (*Salix* spp.) у асистираној фиторемедијацији кадмијума употребом лимунске киселине“ и да се кандидаткињи, Арсенов (Драгољуб) Данијели, **одобри одбрана.**

У Новом Саду,

26.11.2018.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

Др Слободанка Пајевић, редовни професор
Природно-математички факултет
Универзитет у Новом Саду,
Председник комисије

Др Наташа Николић, ванредни професор
Природно-математички факултет
Универзитет у Новом Саду
Ментор

Др Саша Орловић, редовни професор
Пољопривредни факултет,
Институт за низијско шумарство и животну средину
Универзитет у Новом Саду
Члан

Др Андреј Пилиповић, научни сарадник
Институт за низијско шумарство и животну средину
Универзитет у Новом Саду
Члан

Др Милан Боришев, ванредни професор
Природно-математички факултет
Универзитет у Новом Саду
Члан