

UNIVERZITET U BEOGRADU
RUDARSKO-GEOLOŠKI FAKULTET
DEPARTMAN ZA HIDROGEOLOGIJU

PREDMET:
PROJEKAT DOKTORSKE
DISERTACIJE

Profesor: Dr Olivera Krunić, red. prof.
Dr Milojko Lazić, red. prof.
Dr Veselin Dragišić, red. prof.

Student: Vladimir Šaraba (G801/16)

Beograd, 2017.

Sadržaj

1. Uvod	2
2. Predmet doktorske disertacije	6
3. Ciljevi	8
4. Polazne hipoteze	9
5. Naučne metode istraživanja	16
6. Očekivani naučni doprinos	18
7. Konceptija istraživanja i struktura rada	19
7.1. Struktura sadržaja doktorske disertacije	20
8. Računovodstvo i revizija	26
9. Potencijalni rizici i problemi prilikom istraživanja	27
10. Izveštavanje, monitoring i evaluacija	28
Reference	29
Prilozi	29

1. Uvod

U poslednjim decenijama, sa ubrzanim razvojem hidrogeologije, došlo je do značajnog napretka u sticanju znanja iz brojnih oblasti pod okriljem ove naučne discipline. Problematika podzemnih voda - mineralnih, termalnih, termomineralnih, uz svu svoju kompleksnost, ostala je, do danas, između ostalog, uskraćena za tumačenje prisustva i uloge mikroorganizama u njima, kao i međusobne uslovljenosti i interakcije (Krunić & Lazić, 2016).

Sve do kraja prošlog veka, u hidrogeologiji je vladalo mišljenje da podzemne vode, kao deo geološke sredine, nisu pogodne za razvoj života. Zbog toga je proučavanje živog sveta u litosferi, u okviru odgovarajućih hidrogeoloških struktura u kojima su podzemne vode rasprostranjene, zanemareno i izostavljeno u hidrogeologije. Smatralo se da u podzemnim vodama vladaju nemogući uslovi za opstanak živog sveta, i da podzemne vode u kojima je moguć razvoj života, su one koje se nalaze blizu površine terena, sa uslovima sličnim onima koji vladaju na površini Zemlje. Nije se moglo pretpostaviti da pored prisustva različitih oblika života u plitkim, malomineralizovanim podzemnim vodama, mikroorganizmi su veoma često prisutni i u mineralnim, termalnim i termomineralnim vodama, velikih dubina zaleganja, sa specifičnim karakteristikama i ekstremnim uslovima koji vladaju u geološkoj sredini u okviru koje se nalaze (Krunić & Lazić, 2016). Verovalo se da su podzemne vode sterilne sa mikrobiološkog aspekta, zbog filtracione moći poroznog materijala (Cullimore, 2007), i da su mikroorganizmi u Zemljinoj kori ograničeni maksimalno do dubina od 100 m.

Danas se sa sigurnošću zna da mikroorganizmi žive na dubinama i od nekoliko hiljada metara u Zemljinoj kori, što potvrđuju podaci o biocenozi termofilnih bakterija na dubini od 5.278 m, pronađenih u bušotini u Švedskoj, sa temperaturom okolne sredine od 65-75 °C (Pederson, 2000). Pored toga što se mogu naci na dubinama, često se kompleksne zajednice mikroorganizama formiraju i na samim mestima isticanja podzemnih (mineralnih) voda, kao posledica korišćenja nutrijenata i minerala koji su prisutni u ovim vodama.

Uspešno opstaju u ekstremnim uslovima sredine, kao što su nedostatak svetla, organskih materija, izuzetno visoke ili niske temperature, kisela ili alkalna reakcija sredine, i sl., te stoga dobijaju naziv ekstremofili. Predstavljaju model otpornosti života na Zemlji (Pedersen, 2000). Hendry (2006) smatra da je distribucija mikroorganizama u Zemljinoj kori ograničena sa svega nekoliko

faktora, i to: ekstremnim temperaturama ($> 121^{\circ}\text{C}$), ekstremno kiselom ili baznom reakcijom sredine (pH manje od 0.5 i veće od 12.5) i nedostupnošću vode.

Imajući u vidu činjenicu da su hidrogeološka istraživanja često praćena efektima uticaja biotičke komponente, ali ih nisu pratila adekvatna biološka istraživanja, javila se potreba za učenjem i razvojem hidrogeološke discipline koja će proučavati hidrogeološku sredinu sa aspekta uticaja živog sveta, tj. mikroorganizama, čiji naziv glasi biohidrogeologija (od grčkih reči: *bios* - život, *hydor* - voda, *gea* - zemlja, *logos* - nauka). Predstavlja naučnu disciplinu koja se bavi izučavanjem uticaja mikroorganizama na kvalitet i upotrebljivost podzemnih voda sa različitih praktičnih aspekata, uticaja na hidrogeološku sredinu i one delove Zemljine kore koji su usko povezani sa njom, kao i na vodozahvatne objekte kao sastavne delove hidrogeološke sredine. Biološka saznanja ugrađuje u matičnost nauke kojoj pripada, tj. hidrogeologije. Primena bioloških metoda predstavlja pomoćno sredstvo, pri čemu je akcenat na promenama i/ili procesima koji se dešavaju u hidrogeološkoj sredini, stabilnosti vodozahvatnih objekata i kvalitetu podzemnih voda, a sve izazvano prisustvom mikroorganizama i/ili njihovih metabolita u podzemnoj vodi i/ili litosferi.

Interesi za proučavanjem mikroorganizama podzemnih ekosistema su raznovrsni, i potiču od društvenih, profesionalnih i finansijskih motiva (Pederson, 2000). Sve veći broj naučnika tvrdi podzemno poreklo života, verovatno, u blizini hidrotermalnih izvora. Ukoliko je poreklo života podzemno, život na drugim planetama treba tražiti pod zemljom, a ne na njenoj površini (Pederson, 2000). Naftna industrija pokazuje sve veća interesovanja za biološka istraživanja dubokih rezervoara nafte. Efekti mikroorganizama na naftne bušotine mogu biti dvojaki, i to: negativni (korozija, inkrustracija) ili pozitivni (mikrobiološki efekti na ekstrakciju nafte) (Beeder et al., 1995). Postoje ogromni rezervoari energije koji se nalaze duboko ispod okeana, u ležištima ugljovodoničnih gasova, zatim u podvodnim sedimentima, čija je eventualna količina dva puta veća od energije sadržane u poznatim rezervoarima nafte i gasa. Smatra se da je deo ovog gasa proizveden od stane metanogenih mikroorganizama (Pedersen, 2000).

U hidrogeologiji, interesi za istraživanjem mikroorganizama podzemnih voda su višestruki, i usmereni su prevashodno na: a) uvođenje nove specifične metodologije u hidrogeologiju; b) izučavanje procesa i interakcija: podzemne vode ↔ mikroorganizmi minerali; c) izučavanje procesa biološke inkrustacije, biokorozije i biozarastanja, od izuzetnog značaja za stabilnost vodozahvatnih objekata; d) zakonsku regulativu i biohidrogeologiju, sa aspekta vodosnabdevanja,

flaširanja, projektovanja izvorišta podzemnih voda, itd.; e) značaj i mogućnosti bioremedijacije; f) značaj i mogućnosti biomineralizacije; g) pored ostalih uslova, faktora i procesa koji utiču na formiranje mineralnih voda, poznavanje mikrobiološkog sastava koristi se za preciznije tumačenje njihove geneze i evolucije. Takođe, biohidrogeologija ima udela i u oblastima srodnih naučnih disciplina, kao što su: biotehnologija, astrobiologija, farmakologija, kao i uloga biohidrogeologije u procesu proizvodnje biogoriva, čija primena, u skladu sa ekološkim standardima održivog razvoja i korišćenja zelenih vidova energije, dobija sve veći značaj.

U okviru srpske hidrogeologije, u 20. veku, jedini publikovani podaci o mikroorganizmima u podzemnim vodama predstavljaju informacije o algologiji mineralnih voda Ribarske, Brestovačke i Jošaničke banje (*Blaženčić & Cvijan, 1980*). Tri decenije kasnije, kao posledica praktičnih potreba, izvedena su hidrogeološka istraživanja na području Mačve. Povod za rad je bila sanacija bunara BB-1 u naselju Bogatić, 2014. godine. Ovim bunarom je bila zahvaćena termomineralna voda temperature 75°C, u količini od 60 L/s i hidrostatičkim pritiskom od 2.9 bara, iz trijaskih krečnjaka na dubini ispod 410 m. Odluka o privođenju nameni, posle skoro trideset godina, zahtevala je sanaciju, zbog stvaranja taloga na mestu isticanja, a time i evidentnog starenja bunara, koje je posledica, između ostalog, i prisustva specijalizovanih organizama sposobnih da žive u takvim ekstremnim uslovima, gornje granice za fotosintezu. Prilikom sanacije utvrđeno je smanjenje izdašnosti na 37,5 L/s i pritiska na 2.5 bara, što je rezultat inkrustacije kao uzroka starenja bunara. Bušotinom BMe-1 u Metkoviću, je kaptirana izdan iz neogenih peščara i peskova sa samoizlivom od 10 L/s termalnih voda sa temperaturom 63°C, bez primetne inkrustacije na mestu isticanja, ali sa prisutnim naslagama termalnih fototrofnih i fotosintetičkih biofilmova. Potom su usledila hidrogeološka istraživanja mineralnih voda Belotića, Radaljske, Lukovske i Vranjske banje, koja su dala uvid u diverzitet fototrofnih termofilnih mikroorganizama u blizini mesta isticanja i na glavama bunara, primenom svetlosno-optičke i skening-elektronske mikroskopije. Tokom 2017. godine, izvršeno je testiranje mineralnih voda na ciljane fiziološke grupe mikroorganizama na području Torde, Slankamena, banje Selters, Metkovića, Radaljske banje, banje Koviljače, Prolom banje, Vrnjačke banje i Brestovačke banje. Obavljeno je testiranje uzoraka mineralnih voda na prisustvo gvožđevitih, sulfatoredukujućih, azotnih, aerobnih heterotrofnih, *Pseudomonas* vrsta i mikroorganizama koji stvaraju mulj, primenom BARTTM testera. Potom je usledila identifikacija procesa biomineralizacije i determinacija tipa biominerala primenom skening-elektronske mikroskopije,

Projekat doktorske disertacije

na uzorcima biofilmova sa glava bunara Lukovske i Vranjske banje, i Bogatića, i definisanje mineralnog sastava naslaga inkrustacije primenom rendgenske difrakcije praha, čiju precipitaciju iz mineralnih voda na glavama bunara verovatno pospešuju mikroorganizmi kao biološki katalizatori hemijskih reakcija koje se odvijaju u vodi.

Navedeni koraci i implementacija aktivnosti u toku trogodišnjeg perioda, stvorili su neophodnu podlogu za realizaciju doktorske disertacije, koja po prvi put, u okviru srpske hidrogeologije, razmatra uticaj mikroorganizama na mineralne vode, vodozahvatne objekte i njihove tehničke elemente, i procese izazvane prisustvom mikroorganizama i njihovih metabolita u hidrogeološkoj sredini – zonama isticanja, glavama bunara i zonama rasprostranjenja mineralnih voda.

2. Predmet doktorske disertacije

Predmet istraživanja predstavlja procenu diverziteta fototrofnih mikroorganizama u ekstremnim uslovima sredine koji vladaju u zonama isticanja i na glavama bunara, na osam odabranih pojava mineralnih voda, i njihov uticaj na hidrogeološku sredinu i vodozahvatne objekte koji kaptiraju mineralne vode, uz determinaciju biomase mikroorganizama. Drugi aspekt istraživanja usmeren je na definisanje prisustva ciljanih grupa mikroorganizama u mineralnim vodama, i to: gvožđevitih, sulfatoredukujućih, azotnih, aerobnih heterotrofnih, *Pseudomonas* vrsta i mikroorganizama koji stvaraju mulj u devet odabranih vodozahvatnih i kaptažnih objekata, i njihov uticaj na iste, kao i zdravstveni rizik korišćenjem mineralnih voda koje sadrže takvu mikrofloru rastvora. Kvalitativna analiza produkata metabolizma mikroorganizama i/ili hemijske precipitacije iz mineralnih voda, taloženih u zonama isticanja i na glavama bunara, je sastavni deo predmeta istraživanja, uz definisanje fizičko-hemijskih karakteristika mineralnih voda. Praćenje stanja revitalizovanog vodozahvata od ponovnog razvoja mikrobioloških procesa u višegodišnjem vremenskom periodu, je deo razmatranja u okviru predložene doktorske disertacije. Izučavanje procesa biomineralizacije, bioremedijacije, procesa zamene i naknadnog utiskivanja bunarske konstrukcije kao varijante revitalizacije vodozahvata, uslovljenosti i interakcije živog sveta i geološke sredine, geomedicinskog značaja i mogućnosti biotehnoške primene mikroorganizama, predstavlja obavezni sadržaj predmetne problematike.

Odabrane su pojave mineralnih voda kao posledica značaja koji se ostvaruje njihovom primenom u zdravstveno-rekreacione svrhe, tj. balneoterapijske, u svrhe flaširanja, kao potencijalni hidrogeotermalni resurs, ili kao posledica fizičkih svojstva (temperaturnih) i količinskih karakteristika koje ove vode poseduju. Takođe, izbor je i posledica praktičnih potreba, tj. neophodnost postojanja biohidrogeoloških podloga u svrhe izvođenja postupaka revitalizacije vodozahvatnih objekata na kojima je bio primetan razvoj procesa biokorozije, biološke inkrustracije i biozarastanja. Takođe, prilikom odabira, vodilo se računa da izabrani lokaliteti se nalaze u sredinama različitih strukturno-geoloških, hidrogeoloških, hidrodinamičkih, geotektonskih, hidrohemijskih i dr. karakteristika, čime bi se omogućila analiza uticaja geosredina različitog stepena složenosti na razvoj živog sveta u mineralnim vodama.

Odabrane pojave mineralnih voda se razlikuju u pogledu kvalitativnih karakteristika, pre svega temperaturnih (dijapazon temperatura je od hladnih do pregrejanih mineralnih voda), a zatim i u

pogledu jonskog sastava, sadržaja specifičnih mikrokomponenti, gasnog sastava, do načina iskorišćavanja, strukturnih tipova izdani, geološke složenosti i istorije stvaranja terena, a sve sa ciljem analize uticaja što većeg broja faktora na biodiverzitet mineralnih voda.

Glave bunara i zone isticanja mineralnih voda koje su bile predmet istraživanja nalaze se u različitim hidrogeološkim rejonima, i to: a) *Srpsko-kristalasto jezgro*: 1. Vranjska banja – vodozahvatni objekat VG-2; 2. Vranjska banja – vodozahvatni objekat VG-3; b) *Šumadijsko-kopaoničko-kosovska zona*: 1. Lukovska banja – vodozahvatni objekat LB-4, 2. Lukovska banja – vodozahvatni objekat LB-5; c) *Unutrašnji Dinaridi zapadne Srbije*: 1. Radaljska banja – vodozahvatni objekat RB-3/90, 2. Bogatić – vodozahvatni objekat BB-1, 3. Metković – vodozahvatni objekat BMe-1, 4. Belotić – vodozahvatni objekat BBe-1.

Uzorkovanje mineralnih voda sa akcentom na definisanje prisustva ciljanih grupa mikroorganizama, kao potencijalnih uzročnika procesa biozarastanja, biokorozije, biološke inkrustacije, i potencijalnog zdravstvenog rizika, obavljeno je iz devet vodozahvatnih i kaptažnih objekata koji se nalaze na lokalitetima u sledećim hidrogeološkim rejonima: a) *Karpatobalkanidi*: 1. Brestovačka banja – kaptažni objekat tzv. mineralne vode za živce; b) *Srpsko-kristalasto jezgro*: 1. Prolom banja – kaptažni objekat u sklopu banjskog kompleksa, 2. Banja Sleters – kaptažni objekat u sklopu banjskog kompleksa; c) *Šumadijsko-kopaoničko kosovska zona*: 1. Vrnjačka banja – kaptažni objekat “Jezero”; d) *Unutrašnji Dinaridi zapadne Srbije*: 1. Banja Koviljača – kaptažni objekat “Tri česme”; 2. Radaljska banja – vodozahvatni objekat RB-3/90; 3. Metković – vodozahvatni objekat BMe-1; e) *Panonski basen*: 1. Slankamen – kaptažni objekat u sklopu Specijalne bolnice za neurološka obolenja i specijalna stanja; 2. Torda – vodozahvatni objekat jedinstvene gorke vode na teritoriji Srbije, Sveti Đorđe.

Dakle, ispitano je ukupno 17 pojava mineralnih voda na teritoriji Srbije, pri čemu su na 8 pojava osmatranja vršena na površini terena, dok na preostalih 9 pojava, izvršena su ispitivanja mineralnih voda na ciljane fiziološke grupe mikroorganizama, značajnih sa hidrogeološkog aspekta – sa aspekta degradirajućih procesa vodozahvata (biokorozije, biozarastanja i biološke inkrustacije) i zdravstvenog aspekta.

3. Ciljevi

Osnovni ciljevi istraživanja su:

- Ocena stepena istraženosti prethodnih hidrogeoloških istraživanja odabranih pojava mineralnih voda;
- Procena diverziteta fototrofnih mikroorganizama u ekstremnim uslovima hidrogeološke sredine koji vladaju u zonama isticanja i na glavama bunara odabranih pojava mineralnih voda;
- Sagledavanje uticaja paramtera hidrogeološke sredine (temperatura, pH, jonski sastav, oksido-redukcioni potencijal, svetlost, mineralizacija) na biodiverzitet, i obratno, analiza uticaja biodiverziteta na hidrogeohemijske procese i karakteristike sredine;
- Determinacija biomase mikroorganizama u zonama isticanja mineralnih voda i glavama bunara;
- Utvrđivanje prisustva ciljanih grupa mikroorganizama u vodozahvatnim i kaptažnim objektima, i to: gvožđevitih, sulfatoredukujućih, azotnih, heterotrofnih aerobnih, *Pseudomonas* vrsta i mikroorganizama koji stvaraju mulj;
- Kvalitativna analiza produkata metabolizma mikroorganizama i/ili hemijske precipitacije iz mineralnih voda;
- Definisane fizičko-hemijskih karakteristika mineralnih voda;
- Definisane stepena razvoja procesa biokorozije, biološke inkrustracije i biozarastanja na vodozahvatnim objektima mineralnih voda;
- Sagledavanje procesa biomineralizacije u zonama isticanja mineralnih voda;
- Izučavanje procesa zamene i naknadnog utiskivanja bunarske konstrukcije, kao varijante revitalizacije vodozahvatnih objekata;
- Praćenje stanja revitalizovanog objekta u višegodišnjem vremenskom periodu u zavisnosti od razvoja procesa biozarastanja, biokorozije i biološke inkrustacije;
- Mogućnosti biotehnološke primene mikroorganizama i njihov geomedicinski značaj;
- Izučavanje procesa bioremedijacije;
- Mogućnost potencijalnog astrobiološkog i kosmogeološkog značaja;

4. Polazne hipoteze

Prvo otkriće mikroorganizama bilo je od strane holandskog naučnika *Van Leeuwenhoek* (1677), kada je 1673. konstruisao prvi mikroskop. Posmatrajući kapi kišnice pod mikroskopom, koja je stajala nekoliko dana u bačvi, primetio je ogromnu količinu vrlo malenih pokretnih organizama. To je zabeležio i objavio u „Zborniku kraljevskog društva” u Londonu. Zapisao je, da njegov pogled nije imao prijatnijeg prizora od hiljade živih stvorenja – „animalkula” („životinjica”; „živog zverinja”) u kapi vode. To su bile prve opisane bakterije, odnosno, prvi opisani mikroorganizmi (*Jemcev & Đukić, 2000*).

U svetu, prva istraživanja podzemnih voda sa mikrobiološkog aspekta započinju sredinom 19. veka, kada *Hassal* (1850) obavlja mikroskopska istraživanja uzoraka podzemnih voda iz londonskog vodovoda. Prve mikroorganizme u uzorcima podzemnih voda iz bunara opisao je *Cohn* (1853), i to su bile prve opisane bakterije koje su pripadale rodu gvoždevitih i manganskih bakterija. Početkom 20. veka, dokaz o postojanju mikroorganizama u dubokim sedimentima i podzemnim vodonosnim sistemima potvrđen je pronalaskom mikroorganizama u poljskom rudniku soli (*Namyslowski, 1913*), u kalifornijskom naftnom polju sa podzemnim vodama (*Rogers, 1917; Bastin, 1926*) i ruskom naftnom rezervoaru (*Ginsburg-Karagitscheva, 1933*). Godine 1956., usledila je prva sistematska taksonomska procena bakterija iz plitkih izdani u Nemačkoj i ukazala je na prisustvo autohtonih zajednica mikroorganizama koje se razlikuju u odnosu na vrste karakteristične za površinske vode (*Wolters & Schwatz, 1956*). 1970-ih, eksploatacija nafte i podzemnih voda zahtevala je sanaciju propratnih problema, kao što su korozija, začepljenja cevi i bunara, što je za posledicu imalo detaljna mikrobiološka istraživanja zasićenih vodonosnika, jer se smatralo da su mikroorganizmi uzročnici procesa na konstruisanim sistemima u geološkoj sredini (*Ehrlich et al., 1983*). Veliki programi, kao što je Američko Ministarstvo za energetiku (DOE), Naučni program za podzemna istraživanja (SSP) (*Balkwill et al., 1997*) ili program Nemačke istraživačke fondacije (DFG) (*Hirsch, 1992*), podstakli su intenzivnija istraživanja podzemnih voda sa mikrobiološkog aspekta. Time je iniciran i razvoj biohidrogeologije kao naučne discipline, a usko je bio povezan sa razvojem tehnika uzorkovanja podzemnih voda i razvojem tehnologija namenjenih za istraživanje teško dostupnih podzemnih ekosistema (*Dunlap et al., 1977; Wilson et al., 1983; Phelps et al., 1989*). Od tada, brojni programi i konferencije (npr. Regular International Symposium for Subsurface Microbiology) i

posebna poglavlja u naučnim časopisima su odraz sve veće naučne zainteresovanosti za mikroorganizme podzemnih ekosistema i procese koji se odvijaju u njima (Pedersen, 2000).

Imajući u vidu činjenicu da istraživanja mikrobiologije podzemnih voda u svetu započinju još u 19. veku, i da je cilj pratiti razvoj svetske naučne misli u skladu sa savremenim naučnim trendovima, krajnje je vreme za podsticanjem i razvojem ovog dela hidrogeologije, u okviru njene discipline - biohidrogeologije.

Kao podloga predloženoj doktorskoj disertaciji, poslužili su radovi iz polja nauke svetskih istraživača, čiji rezultati svedoče o prisustvu mikroorganizama u podzemnim (mineralnim) vodama i uticaju izazvanim njihovim dejstvom ili prisustvom sekundarnih metabolita u hidrogeološkoj sredini i tehničkim objektima kao sastavnim delovima iste. Kao prilog navedenim činjenicama, navedeni su autori i njihovi rezultati u naučnom polju mikrobiologije podzemnih voda:

- Procenjuje se da je 80% inkrustacije biološkog porekla (Schnieders, 2003);
- Mikrobiološki indukovana korozija je veoma čest primer u hidrogeološkoj praksi (Lazić, 2004);
- Biofilmovi pospešuju razvoj procesa biokorozije (Ikuma et al., 2013);
- Biofilmovi deluju kao sigurna utočišta za patogene sojeve bakterija, kao što je *E. coli*, *Pseudomonas*, *Legionella*, itd. (Camper, 2000);
- Biofilmovi doprinose povećanom bakterijskom nivou u vodi, uzorkuju promenu ukusa, mirisa i zamućenje vode (Charackalis & Marshall, 1990);
- Svi materijali su podložni kolonizaciji mikroorganizama. Praktično, ništa ne može sprečiti razvoj biosloja, razvijaju se u laminarnim, kao i u turbulentnim uslovima režima tečenja (Beech & Sunner, 2006);
- Procenjuje se da ublažavanje korozije košta 3% od bruto svetskog društvenog proizvoda – 1.9 dolara triliona godišnje (Koch et al., 2001);
- Očekuje se 30% - 40% gubitaka vode usled curenja, kao posledica hemijske ili biokorozije (Beech & Sunner, 2006);
- Samo voda koja ispunjava sve zakonom propisane standarde i uslove sa aspekta mikrobiološkog kvaliteta, može biti sigurno i bezbedno korišćena u svrhe pića (Krunić, 2012);

Projekat doktorske disertacije

- Kao krajnji produkt procesa mikrobiološke biomineralizacije, može da nastane preko 60 različitih vrsta minerala (*Weiner, 2000*);
- Stvaranje karbonatnih minerala geološkim procesima traje isuviše dugo, te zbog toga u svetu postoji potreba za indukovanom karbonatnom biomineralizacijom (*Dhami et al., 2013*);
- Primena karbonatnih biominerala ima veliku primenu, i to: u građevinskim materijalima, u medicini, uklanjaju teških metala, radionuklida, jona kalcijuma, polihlorovanih bifenila, ugljen-dioksida, do biodepozicije u zemljištima i peskovitim materijalima (*Dhami et al., 2013*);
- Istraživanje života u ekstremnim sredinama, kao što su često sredine rasprostranjenja mineralnih, termalnih i termomineralnih voda, paralelno je istraživanju mogućeg života na drugim planetama (*Pederson, 2000*);
- Život na drugim planetama treba tražiti pod zemljom, a ne na njenoj površini (*Pedersen, 2000*);
- Mineralne vode zbog svoje temperature, fizičkih, hemijskih karakteristika, ili svega zajedno, pogodne su za kontrolisano uzgajanje selekcionisanih algi i bakterija, koje se koriste u farmakologiji, agronomiji, za razne biotehnologije i sl. (*Krunić, 2012*);
- Smatra se da mikroorganizmi koji žive u najsirovijim uslovima, mogu da postanu sredstvo za lečenje nekih od najsmrtonosnijih bolesti (*Friger, 2016*), a upravo sredine rasprostranjenja termomineralnih voda se veoma često karakterišu ekstremnim uslovima sredine;
- Na mikroorganizmima iz zemlje su bazirani lekovi protiv raka, uključujući bleomicin i doksorubicin, antibiotike kao što je eritromicin, lekove za gljivice, kao i lekove za bolesti zavisnosti od alkoholizma (*Friger, 2016*);
- U praksi je prisutna pojava da čitava izvorišta podzemnih voda dovoljnih količinskih karakteristika bivaju zatvorena zbog nepovoljnih mikrobioloških parametara (*Stevanović, 2017*);

Relevantni bibliografski izvori i ostvareni rezultati na koje se nadovezuju predviđena istraživanja u predloženoj doktorskoj disertaciji su sledeći:

- Aguilera, A., Souza-Egipsy, V. & R. Amils, 2012: Photosynthesis in extreme environments. – In: Najafpour, M. (eds.) *Artificial Photosynthesis*. InTech, pp. 271-288.
- Alfreider, A., Krössbacher, M. & Psenner, R., 1997: Groundwater samples do not reflect bacterial densities and activity in subsurface systems. - *Water Research*, 31, 832–840.
- Allen, M. J., 1978: Microbiology of groundwater. - *Journal WPCF*, 1342-1343.
- Balkwill, D. L., 1989: Numbers, diversity, and morphological characteristics of aerobic, chemoheterotrophic bacteria in deep subsurface sediments from a site in South Carolina. - *Journal of Geomicrobiology*, 7, 33-52.
- Balkwill, D. L., Reeves, R. H., Drake, G. R., Reeves, J. Y., Crocker, F. H., Baldwin King, M. & Boone, D. R., 1997: Phylogenetic characterization of bacteria in the subsurface microbial culture collection. - *FEMS Microbiology Reviews*, 20, 201–216.
- Bastin, E. S., 1926: The presence of sulfate reducing bacteria in oil field waters, *Science*, 63, 21–24.
- Bebout, B. M., Hoehler, T. M., Thamdrup, B., Albert, D., Carpenter, S. P., Hogan, M., Turk, K., Des Marais, D. J., 2004: Methane production by microbial mats under low sulphate concentrations. - *Geobiology*, 2, 87–96.
- Beech, I. B. & J. A. Sunner, 2006: Biocorrosion in drinking water distribution systems. – *Journal of Interface Science in Drinking Water Treatment*, 10 (14), 245-255.
- Blaženčić, J. & Cvijan, M., 1980: Alge u mineralnim vodama Ribarske, Brestovačke i Jošaničke Banje. *Biosistematika*, 6(2), 117-134.
- Bulmann, D. & W. Dreybradt, 1987: Calcite dissolution kinetics in the system $H_2O - CO_2 - CaCO_3$ with the participation of foreign ions. – *Journal of Chem. Geol.*, 64, 89 – 102. Doi: [https://doi.org/10.1016/0009-2541\(87\)90154-9](https://doi.org/10.1016/0009-2541(87)90154-9).
- Chafetz, H. S., 1994: Bacterially induced precipitates of calcium carbonate and lithification of microbial mats. - In: Krumbein, W. E. et al. (eds.) *Biostabilization of sediments*. Oldenburg Press, pp. 526, Oldenburg.
- Cvijan, M., 2013: *Algologija*. – University in Belgrade, Faculty of Biology, Belgrade.
- Debnath, M., Mandal, N. C. & S. Ray, 2009: The study of cyanobacterial flora from geothermal springs of Bakreswar, West Bengal, India. – *Algae*, 24 (4), 185-193. Doi: 10.4490/ALGAE.2009.24.4.185.

- Des Marais, D. J., 1995: The biogeochemistry of hypersaline microbial mats. – In: *Advanced in Microbial Ecology*. Springer US, pp. 251-274, New York. Doi: https://doi.org/10.1007/978-1-4684-7724-5_6.
- Des Marais, D. J., 2000: When did photosynthesis emerge on Earth. – *Science*, 289, 1703-1705. Doi: 10.1126/science.289.5485.1703.
- Driscoll, F. G., 1986: *Groundwater and Wells* (2nd ed.). - Johnson Filtration Systems Inc., pp. 197-210, St. Paul.
- Donlan, R. M., 2002: Biofilms: microbial life of surfaces. - *Journal of Emerging Infectious Diseases*, 8 (9), 881. Doi: <https://dx.doi.org/10.3201/eid0809.020063>.
- Filipović, B. (2003). *Mineralne, termalne i termomineralne vode Srbije*. Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
- Filipović, B., Krunić, O. & M. Lazić. (2005). *Regionalna hidrogeologija Srbije*. Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
- Hazen, T. C., Jimenez, L., Lopez de Victoria, G. & C. B. Fliermans, 1991: Comparasion of bacterial from deep subsurface sediment and adjacent groundwater.- *Microbial Ecology*, 16, 293-304.
- Hofmann, H. J., Grey, K., Hickman, A. H. & R. I. Thorpe, 1999: Origin of 3.45 Ga coniform stromatolites in Warrawoona group, Western Australia.- *Geological Society of America Bulletin*, 111 (8), 1256-1262.
- Hoseini, S. M. et al., 2013: Nutritional and Medical Applications of *Spirulina* Microalgae. – *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 13 (8), 1231-1237.
- Houben, G. & C. Treskatis, 2007: *Water Well Rehabilitation and Reconstruction*.- The MCGraw-Hill Companies, pp. 391.
- Jemcev, V. & D. Đukić. *Mikrobiologija*. Vojnoizdavački zavod, Beograd.
- Krunić, O. (1999). *Termomineralne vode Srbije – osnovni tipovi i karakteristike*. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
- Krunić, O. (2012). *Mineralne vode*. Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
- Krunić, O., Subakov-Simić, G., Popović, S., Lazić, M., Kljajić, Ž., & V. Šaraba, 2016: Hidrogeobiologija fototrofnih mikroorganizama u biofilmovima odabranih pojava termomineralnih voda Srbije. – In: Vranješ, A. et al. (eds) *XV srpski simpozijum o hidrogeologiji sa međunarodnim učešćem*, 14 – 17 September 2016, Kopaonik. University in Belgrade, Faculty of Mining and Geology, 351-356, Belgrade.

- LeChevallier, M. W., Welch, N. J. & D. B. Smith, 1996: Full-scale studies of factors related to coliform regrowth in drinking water.- *Applied and Environmental Microbiology*, 62 (7), 2201-2211.
- Lehman, M. R., 2001: Attached and unattached microbial communities in a simulated basalt aquifer under fracture-and porous-flow conditions.- *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 2799-2809. Doi: 10.1128/AEM.67.6.2799-2809.2001.
- Martinović, M. & M. Milivojević, 1998: The hydrogeothermal system of Mačva and Semberija. – In: *Geothermie: Forschung Entwicklung Markt (Tagungsband)*, 5. Geothermische Fachtagung, 12-15 Mai 1998, Straubing. 133-141, Straubing.
- Martinović, M. et al. 2012: Mogućnost proizvodnje električne energije iz hidrogeotermalnih resursa na području surduličkog granitoidnog masiva. – In: XIV srpski simpozijum o hidrogeologiji sa međunarodnim učešćem. University of Belgrade, Faculty of Mining and Geology, 203-209, Belgrade.
- Mongra, A. C., 2013: Cyanobacteria – potential producers of economical and medical important products in hot water spring Tattapani Himachal Pradesh.- *IJRRPAS*, 3(6), 910-934.
- Nofke, N., Eriksson, K. A., Hazen, R. M. & E. L. Simpson, 2006: A new window into Early Archean life: Microbial mats in Earth's oldest siliciclastic tidal deposits (3.2 Ga Moodies Group, South Africa).- *Geology*, 34, 253-256. Doi: <https://doi.org/10.1130/G22246.1>.
- Norton, C. D. & M. W. LeChevallier, 2000: A pilot study of bacteriological population changes through potable water treatment and distribution.- *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (1), 268-276. Doi: 10.1128/AEM.66.1.268-276.2000.
- Papić, P., 1991: Scaling and corrosion potential of selected geothermal water in Serbia. – UNU Geothermal Training Programme, Report 9, Reykjavik, Iceland.
- Stevens, T. O. & McKinley, J. P., 1995: Lithoautotrophic microbial ecosystems in deep basalt aquifers. - *Science*, 270, 450–454.
- Stevens, T. O., 1997: Lithoautotrophy in the subsurface. - *FEMS Microbiology Reviews*, 20, 327–337.
- Tice, M. M. & D. R. Lowe, 2004: Photosynthesis microbial mats in the 3,416-Myr-old ocean.- *Nature*, 431 (7008), 549-552.
- Tice, M. M., Lowe, D. R., 2006: Hydrogen-based carbon fixation in the earliest known photosynthetic organisms. - *Geology*, 34, 37–40.

- Tolker-Nielsen, T. & Molin, S., 2000: Spatial organization of microbial biofilm communities. - *Microb. Ecol.*, 40, 75-84.
- Van der Wielen, P., Voost, S. & Van der Kooij, D., 2009: Ammonia-Oxidizing Bacteria and Archaea in Groundwater Treatment and Drinking Water Distribution Systems. - *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 4687-4695.
- Van Gemerden, H., 1993: Microbial mats: A joint venture. - *Marine Geology*, 113 (1-2), 3-25.
- Videla, H. A. & Herrera, L. K., 2009: Understanding microbial inhibition of corrosion, A comprehensive overview. - *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63, 896-900.
- Visscher, P. T., Surgeon, T. M., Hoefft, S. E., Bebout, B. M., Thompson, J. A. & Reid, R. P., 2002: Microelectrode studies in modern marine stromatolites: unraveling the Earth's past? In: Taillefert, M. & Rozan, T., (Eds.), Cambridge Univ. Press, New York, pp. 265-282.
- Visscher, P. T., Baumgartner, L. K., Buckley, D. H., Rogers, D. R., Hogan, M. E., Raleigh, C. D., Turk, K. A., Des Marais, D. J., 2003: Dimethyl sulphide and methanethiol formation in microbial mats: potential pathways for biogenic signatures. - *Environmental Microbiology*, 5, 296-308.
- Visscher, P. T. & Stolz, F. J., 2005: Microbial mats as bioreactors: populations, processes and products. - *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology*, 219 (1-2), 87-100.
- Wang, H. B. et al., 2012: Effects of disinfectant and biofilm on the corrosion of cast iron pipes in a reclaimed water distribution system. - *Water Research*, 46, 1070-1078.
- Ward, D., M., Ferris, M. J., Nold, S. C. & Bateson, M. M., 1998: A natural view of microbial diversity within the hot spring cyanobacterial mat communities. - *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62, 1353-1370.
- Wilson, J. T., McNabb, J. F., Balkwill, D. L. & Ghiorse, W. C., 1983: Enumeration and characterization of bacteria indigenous to a shallow water-table aquifer. - *Ground Water*, 21, 134-142.
- Zarda, B., Mattison, G., Hess, A., Hahn, D., Höhener, P. & Zeyer, J., 1998: Analysis of bacterial and protozoan communities in an aquifer contaminated with monoaromatic hydrocarbons. - *FEMS Microbiology Ecology*, 27, 141-152.
- Zhu, I. X. et al., 2010: Review of biologically active filters in drinking water applications. - *Journal of American Water Works Association*, 102, 67-77.
- Zuo, R., 2007: Biofilms: strategies for metal corrosion inhibition employing microorganisms. - *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76, 1245-1253.

5. Naučne metode istraživanja

Tokom rada na predloženoj doktorskoj disertaciji, istraživanja će biti obavljena primenom više različitih metoda i postupaka. Predviđene su sledeće metode i postupci istraživanja:

- **Hidrogeološke metode:**

- Terenske metode:

- Hidrogeološko rekognosciranje odabranih pojava i vodozahvatanih objekata mineralnih voda;
 - Terenska laboratorija za određivanje pH, temperature, mineralizacije i eletroprovodljivosti mineralnih voda;
 - Uzorkovanje mineralnih voda za fizičko-hemijske analize;
 - Uzorkovanje inkrustovanih naslaga za kristalografske analize;

- Kvantitativne metode:

- Opitna crpenja mineralnih voda iz vodozahvatnih objekata;

- Kvalitativne (hidrohemijske) metode:

- Laboratorijske metode:

- Volumetrija;
 - Potencijometrija;
 - Turbidimetrija;
 - Spektrofotometrija;
 - Gasna volumetrija;
 - Kolorimetrija;
 - Elektrometrija;

- **Mikrobiološke metode:**

- Terenske metode:

- Uzorkovanje fototrofnih biofimova u blizini mesta isticanja i na glavama bunara vodozahvatnih objekata mineralnih voda;
 - Uzorkovanje mineralnih voda iz vodozahvatnih i kaptažnih za mikrobiološke analize;
 - Uzorkovanje fototrofnih biofilmova primenom standardnih kalupa za
 - određivanje biomase mikroorganizama;

- Svetlosno-optička mikroskopija:
 - Mikroskop Zeiss Axio Imager-M1;
- Skening-elektronska mikroskopija:
 - Philips PW 1710 difraktometar;
- IRB-BART™ tester;
- SRB-BART™ tester;
- DN-BART™ tester;
- SLYM-BART™ tester;
- HAB-BART™ tester;
- FLOR-BART™ tester;
- **Kristalografske metode:**
 - Rendgenska difrakcija praha:
 - Rigak SmartLab difraktometar;

6. Očekivani naučni doprinos

Izradom predložene doktorske disertacije, mogu se očekivati sledeći naučni doprinosi:

- Ocena stanja vodozahvatnih objekata (biokorozija, biozarastanje, biološka inkrustacija);
- Procena diverziteta termofilnih fototrofnih mikroorganizama u blizini mesta isticanja i na glavama bunara u ekstremnim uslovima hidrogeološke sredine (povišene temperature, visoka mineralizacija, specifične mikrokomponente, pH vrednost, i sl.);
- Analiza uticaja paramtera sredine (temperatura, pH, mineralizacija, oksido-redukcioni potencijal, gasovi, jonski sastav, itd.) na biodiverzitet mikroorganizama u podzemnim (mineralnim) vodama, i obratno, analiza uticaja mikroorganizama na hidrogeohemijske procese i karakteristike sredine;
- Određivanje biomase mikroorganizama na glavama bunara i u blizini mesta isticanja mineralnih voda;
- Određivanje prisustva ciljanih fizioloških grupa mikroorganizama, u vodozahvatnim objektima, koji uzrokuju biokoroziju, biozarastanje ili biološku inkrustaciju, te utiču i na kvalitet podzemnih (mineralnih) voda sa zdravstvenog aspekata;
- Određivanje fizičko-hemijskog sastava mineralnih voda;
- Određivanje prisutnih mineralnih faza u uzorcima inkrustovanih naslaga;
- Tumačenje procesa biomineralizacije u zonama isticanja mineralnih voda;
- Izučavanje mogućnosti biotehnoške primene ekstremofilnih mikroorganizama i njihov geomedicinski značaj i uticaj na lekovitost mineralnih voda;
- Izučavanje procesa bioremedijacije;
- Definisanje razvoja procesa biozarastanja, biokorozije i biološke inkrustacije u višegodišnjem osmatranom periodu na revitalizovanom vodozahvatnom objektu;
- Izučavanje procesa zamene i naknadnog utiskivanja bunarske konstrukcije, kao varijante revitalizacije vodozahvatnih objekata;
- Definisanje hidrogeološke uloge u astrobiološkim i kosmogeloškim istraživanjima;

7. Konceptija istraživanja i struktura rada

Proces realizacije doktorske disertacije podeljen je u tri faze koje su međusobno povezane:

I faza će obuhvatiti:

- Prikupljanje literarnih podataka kojima se obrađuju geološke i hidrogeološke karakteristike odabranih pojava mineralnih voda, odnosno, izvršiće se prikupljanje publikovane i fondovske dokumentacije koja je dostupna za 17 lokaliteta koji su predmet istraživanja;
- Hidrogeološko rekognosciranje pojava i objekata koji su predmet istraživanja, upoznavanje sa područjem istraživanja i uvid u činjenično stanje vodozahvatnih i kaptažnih objekata "in situ";
- Formiranje baze podataka i njihova analiza;
- Izrada hidrogeološke i geološke dokumentacije u vidu litoloških profila i konstrukcija vodozahvatnih objekata, geoloških podloga, profila, stubova i geotektonskih skica;
- Praćenje razvoja mikrobioloških procesa (biokorozija, biološka inkrustacija i biozrastanje) na vodozahvatnim objektima;

II faza rada obuhvata:

- Opitna crpenja mineralnih voda iz vodozahvatnih objekata;
- Merenja kvalitativnih parametara podzemnih (mineralnih) voda "in situ", i to: temperatura, pH, mineralizacija i elektroprovodljivost na 17 odabranih pojava mineralnih voda;
- Uzorkovanje fototrofnih biofilмова za mikrobiološke analize u zonama isticanja i na glavama bunara;
- Uzorkovanje fototrofnih biofilмова standardnim kalupima za određivanje primarne produkcije mikroorganizama;
- Uzorkovanje mineralnih voda iz vodozahvatnih i kaptažnih objekata za mikrobiološke analize;
- Uzorkovanje mineralnih voda za fizičko-hemijske analize;
- Uzorkovanje inkrustovanih naslaga za kristalografske analize;

- Analiza fototrofnih biofilмова primenom svetlosno-optičke mikroskopije;
- Analiza fototrofnih biofilмова primenom skening-elektronske mikroskopije;
- Određivanje primarne produkcije mikroorganizama na glavama bunara i u blizini mesta isticanja mineralnih voda;
- Analiza mineralnih voda primenom IRB-BART™ testera;
- Analiza mineralnih voda primenom SRB-BART™ testera;
- Analiza mineralnih voda primenom HAB-BART™ testera;
- Analiza mineralnih voda primenom SLYM-BART™ testera;
- Analiza mineralnih voda primenom DN-BART™ testera;
- Analiza mineralnih voda primenom FLOR-BART™ testera;
- Analiza mineralnih voda standardnim hidrohemijskim postupcima za definisanje fizičko-hemijskog sastava (volumetrija, potenciometrija, turbidimetrija, spektrofotometrija, gasna volumetrija, kolorimetrija, ektrometrija)
- Analiza inkrustovanih naslaga primenom metode rendgenske difrakcije praha;
- Praćenje razvoja mikrobioloških procesa (biokorozija, biološka inkrustacija i biozarastanje) na vodozahvatnim objektima;

III faza rada je završna faza koja obuhvata obradu svih podataka i rezultata koji su dobijeni kabinetskim, terenskim i laboratorijskim istraživanjima na 17 odabranih pojava mineralnih voda Srbije. Na osnovu svih prikupljenih podataka I i II faze izvođenja radova na izradi doktorske disertacije, izvršiće se finalna obrada, odnosno, izradiće se grafički i tekstualni deo disertacije. Ova faza podrazumeva korišćenje računarskih programa u svrhu predstavljanja što kvalitetnijeg i jasnijeg prikaza hidrogeološko-bioloških činjenica. Sastavi delovi ovi faze su tumačenje i diskusija, kao i predlog daljih mera i zaključak.

Koordinacija i menadžment doktorske disertacije, izveštavanje, monitoring i evaluacija su sastavni delovi I, II i III faze.

7.1. Struktura sadržaja doktorske disertacije

Strukturu predložene doktorske disertacije čine sledeće oblasti:

I. Uvodna razmatranja

II. Teorijski okvir (osnove) istraživanja

III. Eksperimentalni deo

IV. Rezultati

V. Diskusija

VI. Zaključak

Precizan sadržaj predložene disertacije bi bio sledeći:

I. UVODNA RAZMATRANJA

1. Predmet i cilj istraživanja
2. Polazne hipoteze

II. TEORIJSKI OKVIR (OSNOVE) ISTRAŽIVANJA

1. Podzemne vode i mikroorganizmi

- 1.1. Stepen poznavanja podzemnih voda kao pogodne ekološke sredine za razviće, život i opstanak mikroorganizama
- 1.2. Sagledavanje uslova opstanka mikroorganizama u zavisnosti od karakteristika hidrogeološke sredine
- 1.3. Hidrogeohemijsko dejstvo određenih fizioloških grupa i vidova mikroorganizama na podzemne vode
- 1.4. Klasifikacija mikroorganizama podzemnih voda

2. Uloga i značaj proučavanja mikroorganizama sa aspekta hidrogeoloških istraživanja podzemnih (mineralnih) voda

- 2.1. Vodosnabdevanje podzemnim vodama i mikroorganizmi
- 2.2. Aspekti i mogućnosti primene u balneologiji
- 2.3. Biozarastanje vodozahvatnih objekata
- 2.4. Biokorozija vodozahvatnih objekata
- 2.5. Biološka inkrustacija vodozahvatnih objekata

- 2.6. Cvetanje izvorišta podzemnih voda
- 2.7. Termotehnička oprema i mikroorganizmi
- 2.8. Značaj i mogućnosti bioremedijacije
 - 2.8.1. Bioremedijacija aktivnim muljom
 - 2.8.2. Bioremedijacija biofiltrima
- 2.9. Značaj i mogućnosti biomineralizacije
- 2.10. Značaj i mogućnosti bioluženja
- 2.11. Uloga mikroorganizama u tumačenju geneze i evolucije podzemnih (mineralnih) voda
- 2.12. Uzgajanje selekcionisanih mikroorganizama u podzemnim (mineralnim) vodama
- 3. Biohidrogeologija – uloga i značaj u sklopu metodike hidrogeoloških istraživanja**
 - 3.1. Razvoj biohidrogeologije u svetu
 - 3.2. Razvoj biohidrogeologije u Srbiji
 - 3.3. Cilj, zadaci i očekivani rezultati biohidrogeoloških istraživanja podzemnih (mineralnih) voda
 - 3.4. Uvođenje nove specifične metodologije u hidrogeologiji
- 4. Fototrofni mikroorganizmi**
- 5. Ekstremofilni mikroorganizmi**
- 6. Litotrofni mikroorganizmi**

III. EKSPERIMENTALNI DEO

- 1. Izbor reprezentativnog područja istraživanja**
- 2. Karakteristike izabranog reprezentativnog područja**
 - 2.1. Opšte karakteristike
 - 2.1.1. Geografski položaj područja istraživanja
 - 2.1.2. Hidrometeorološke karakteristike
 - 2.1.2.1. Temperatura vazduha
 - 2.1.2.2. Padavine
 - 2.1.2.3. Relativna vlažnost i oblačnost vazduha

- 2.1.3. Hidrografsko-hidrološke karakteristike
- 2.1.4. Geomorfološke karakteristike
- 2.2. Geološke karakteristike
 - 2.2.1. Litostratigrafske jedinice
- 2.3. Tektonske karakteristike
- 2.4. Hidrogeološke karakteristike
 - 2.4.1. Zbijeni (intergranularni) tip izdani
 - 2.4.2. Pukotinski tip izdani
 - 2.4.3. Karstni (disolucioni) tip izdani
 - 2.4.4. Složeni tip izdani

3. Materijali i metode istraživanja

- 3.1. Hidrogeološke metode istraživanja
 - 3.1.1. Terenske metode istraživanja
 - 3.1.1.1. Hidrogeološko rekognosciranje odabranih pojava i vodoazhavtnih objekata mineralnih voda
 - 3.1.1.2. Terenska laboratorija: merenje temperature, pH, elektroprovodljivosti i mineralizacije mineralnih vode
 - 3.1.1.3. Uzorkovanje mineralnih voda za fizičko-hemijske analize
 - 3.1.1.4. Uzorkovanje inkrustovanih naslaga za kristalografske analize
 - 3.1.2. Kvantitativne hidrogeološke metode
 - 3.1.2.1. Opitna crpenja mineralnih voda iz vodozahvatnih objekata
 - 3.1.3. Kvalitativne (hidrohemijske) metode
 - 3.1.3.1. Volumetrija
 - 3.1.3.2. Potenciometrija
 - 3.1.3.3. Turbidimetrija
 - 3.1.3.4. Spektrofotometrija
 - 3.1.3.5. Gasna volumetrija
 - 3.1.3.6. Kolorimetrija
 - 3.1.3.7. Elektrometrija
- 3.2. Mikrobiološke metode istraživanja
 - 3.2.1. Terenske metode

- 3.2.1.1. Uzorkovanje fototrofnih biofilmova za mikrobiološke analize
- 3.2.1.2. Uzorkovanje fototrofnih biofilmova standardnim kalupima za determinaciju primarne produkcije
- 3.2.1.3. Uzorkovanje mineralnih voda za mikrobiološke analize
- 3.2.2. Svetlosno-optička mikroskopija
 - 3.2.2.1. Zeis Axio Imager – M1
- 3.2.3. Skening-elektronska mikroskopija
 - 3.2.3.1. Philips PW 1710 difraktometar
- 3.2.4. Determinacija biomase mikroorganizama
- 3.2.5. IRB-BART™ tester
- 3.2.6. SRB-BART™ tester
- 3.2.7. DN-BART™ tester
- 3.2.8. HAB-BART™ tester
- 3.2.9. SLYM-BART™ tester
- 3.2.10. FLOR-BART™ tester
- 3.3. Kristalografske metode istraživanja
 - 3.3.1. Rendgenska difrakcija praha
 - 3.3.1.1. Rigak SmartLab difraktometar

IV. REZULTATI

1. Rezultati hidrogeoloških metoda

- 1.1. Rezultati terenskih hidrogeoloških metoda
 - 1.1.1. Rezultati hidrogeološkog rekognosciranja pojava i vodozahvatnih objekata mineralnih voda
 - 1.1.2. Rezultati terenske laboratorije
- 1.2. Rezultati kvantitativne hidrogeološke metode
 - 1.2.1. Rezultati opitnih crpenja mineralnih voda iz vodozahvatnih objekata
- 1.3. Rezultati kvalitativnih (hidrohemijskih) hidrogeoloških metoda
 - 1.3.1. Rezultati volumetrije
 - 1.3.2. Rezultati potencijometrije

- 1.3.3. Rezultati turbidimetrije
- 1.3.4. Rezultati spektrofotometrije
- 1.3.5. Rezultati gasne volumetrije
- 1.3.6. Rezultati kolorimetrije
- 1.3.7. Rezultati elektrometrije

2. Rezultati mikrobioloških metoda

- 2.1. Rezultati determinacije biomase mikroorganizama
- 2.2. Rezultati svetlosno-optičke mikroskopije
- 2.3. Rezultati skening-elektronske mikroskopije
- 2.4. Rezultati IRB-BART™ testera
- 2.5. Rezultati SRB-BART™ testera
- 2.6. Rezultati DN-BART™ testera
- 2.7. Rezultati SLYM-BART™ testera
- 2.8. Rezultati HAB-BART™ testera
- 2.9. Rezultati FLOR-BART™ testera

3. Rezultati kristalografskih metoda

- 3.1. Rezultati rendgenske difrakcije praha

V. DISKUSIJA

VI ZAKLJUČAK.

8. Računovodstvo i revizija

Cene i radovi koji će biti potrebni za implementaciju predloženih aktivnosti u sklopu doktorske disertacije navode se u nastavku teksta, sa detaljnim prikazom neophodnih novčanih sredstava za svaku aktivnost pojedinačno:

- Hidrogeološko rekognosciranje, nabavka opreme za uzorkovanje i transport mineralnih voda, fototrofnih biofilmova i naslaga inkrustacije za fizičko-hemijske, mikrobiološke i kristalografske analize (obilazak pojava mineralnih voda na lokalitetima Torde, Slankamena, Bogatića, Metkovića, Belotića, banje Selters, Radaljske banje, banje Koviljača, Lukovske banja, Prolom banje, Vranjske banja, Vrnjačke banje i Brestovačke banja, tj. obilazak 17 vodozahvatnih i kaptažnih objekata na 13 pojava mineralnih voda na lokalitetima u različitim geografskim područjima teritorije Srbije, što podrazumeva obezbeđen prevoz, smeštaj, itd.).....600 evra
- Izrada kompletnih fizičko-hemijskih analiza mineralnih voda (17 analiza mineranih voda * 100 evra).....1.700 evra
- Izrada SEM-EDS analiza uzoraka fototrofnih termalnih biofilmova, 2015. godine (5 analiza * 130 evra).....650 evra
- Izrada SEM-EDS analiza uzorka fototrofnih termalnih biofilmova, 2017. godine (3 analize * 130 evra).....390 evra
- Izrada analiza svetlosno-optičkog mikroskopa uzoraka fototrofnih termalnih biofilmova (8 uzoraka * 30 evra).....240 evra
- Izrada analiza mineralnih voda primenom BART™ testera (9 uzoraka mineralnih voda * 6 testera, dakle, ukupno 54 testera * 14 evra, uz dodatak pdv).....900 evra
- Izrada analiza primenom metode rendgenske difrakcije praha (5 analiza * 20 evra).....100 evra

Ukupna suma za aktivnosti predviđene predloženom doktorskom disertacijom, u trajanju od pet godina, iznosi **4.580 evra**, odnosno, prema trenutno važećem kursu evra (eur =121,87) cena doktorske disertacije iznosi **558.164,6 rsd**.

9. Potencijalni rizici i problemi prilikom istraživanja

Izrada predložene doktorske disertacije se planira u vremenskom periodu od pet godina (2015-2019. godine), što zahteva visok nivo profesionalizma, neophodnost istraživačkih napora, kao i zajedničku saradnju svih članova upućenih na izradu disertacije – mentora, članova komisije, laboranata. Neophodno je pravovremeno obezbeđenje opreme i ispunjavanje svih logističkih i organizacionih zahteva, kao i obezbeđenje neophodnih i dovoljnih finansija. Velika pažnja usmjerena je na pravilno uzorkovanje mineralnih voda i fototrofnih biofilmova, s obzirom da neadekvatno uzorkovanje za posledicu može da ima nereprezentativne fizičko-hemijske i mikrobiološke analize vode i fototrofnih biofilmova, što može da se odrazi na krajnji uspešan rezultat naučno-istraživačkog poduhvata. Takođe, ukoliko prikupljanje podataka nije detaljno i tačno, mogućnost za adekvatnu intepretaciju rezultata neće biti pouzdana. Potrebno je da tehnička specifikacija opreme bude potvrđena i usklađena kako bi se omogućila fleksibilnost u pogledu nabavke materijala dostupnih na domaćem tržištu. To će omogućiti blagovremenu isporuku i pomoći bržem izvođenju radova.

Realizaciju radovu na izradi doktorske disertacije prate određeni rizici, koji se moraju planirati, a na koje se ne može mnogo uticati. Rizici mogu biti:

- *Ekonomski rizici* – glavni problem na izvođenju planiranih radova može nastati usled nedovoljne količine novca koju je potrebno izdvojiti, i koji bi obezbedio kvalitetnu realizaciju radova i izvršavanje svih planiranih aktivnosti. Takođe, postoji i mogućnost prekidanja kontinuiranih aktivnosti na izradi doktorske disertacije usled nedostatka novca.
- *Tehnički rizici* – nedostatak opreme ili materijala za rad, moguće havarije tokom izvođenja radova, nedostatak sredstava za ličnu zaštitu i sl., predstavljaju rizike koje možemo da otklonimo ili bar značajno da ublažimo.
- *Klimatski rizici* – moguće vremenske nepogode: suše, poplave, snežni nameti i veliki mrazevi, mogu u velikoj mjeri da utiču na dinamiku celokupnih planiranih aktivnosti.
- *Ostali rizici* – neadekvatno uzorkovanje mineralnih voda i fototrofnih biofilmova ima za posledicu rezultate koji nisu vjerodostojni, kako hemijske tako i mikrobiološke, što može da rezultuje neadekvatnom intepretacijom dobijenih podataka.

10. Izveštavanje, monitoring i evaluacija

Kompletna realizacija teze biće prikazani kroz finalni (završni) izveštaj u formi pisanog rada - doktorata. Za sve aktivnosti će se prikazati sumarni rezultati uključujući osnovne informacije, rezultate analiza, diskusiju, predloge mera i daljih istraživanja, kao i detaljnu grafičku dokumentaciju.

Tokom izvršavanja planiranih aktivnosti neophodno je izrađivati sledeće izveštavaje:

- **Kvartalni izveštaji** treba da sadrže opis sprovedenih aktivnosti, postignute rezultate i probleme. Takođe, treba da sadrže i sve promene koje su uočene i koje odstupaju od planiranih tokom realizacije doktorske disertacije;
- **Finalni izveštaj** uključuje procenu uticaja disertacije, zaključke i preporuke, kao i predloge za praćenje i podršku ostvarenim rezultatima u praksi. Takođe, neophodno je u sklopu izveštaja dati prijedloge za dalja istraživanja;

Nakon utvrđenih ciljeva i aktivnosti, potrebno je ustanoviti i nadzor, kako bi svi zakoni, propisi i dogovori bili poštovani i kako se od toga ne bi ni na koji način odstupilo.

Neophodno je ustanoviti konstantan monitoring radova. Neophodno je usvojiti sledeći plan sistema monitoringa:

- **Finansijski monitoring** – vršiće kandidat, koji dodeljuje novčana sredstva za izvršenje planiranih aktivnosti. Finansije će biti praćene i izveštajima koji će se raditi kvartalno, tj. na svaka četiri meseca. U izveštajima će biti date i tabele kako bi troškovi bili jasnije prikazani. U okviru finansijskog monitoringa, na osnovu budžeta koji je planiran, vršiće se monitoring efikasnosti aktivnosti.
- **Monitoring rezultata** – vršiće kandidat. Neophodno je sve rezultate dostaviti tabelarno i grafički. Monitoringom će biti utvrđena uspešnost i efikasnost predviđenih radova i uklapanje u dati budžet, kao i ispunjavanje prethodno postavljenih zahteva i potreba.

U okviru evaluacije ocenjivaće se uspešnost datih aktivnosti. Tokom pisanja doktorske disertacije biće vršena razmatranja relevantnosti problema koji se želi rešiti, kao i relevantnost sredstava koja će biti upotrebljena. Tokom realizacije aktivnosti posebna pažnja biće posvećena evaluaciji aktivnosti ("input – output poređenja"), kao i o njihovoj efikasnosti.

Reference

Prilozi

Prilog 1. Gantogram predložene doktorske disertacije

Red. broj	Godine
	Meseci
1	Prikupljanje publikovane i fondovske literarne dokumentacije
2	Hidrogeološko rekognosciranje pojava i objekata
3	Formiranje baze podataka
4	Analiza baze podataka
5	Izrada geološke i hidrogeološke dokumentacije
6	Test crpenja, određivanje hidrodinamičkih parametara
7	Određivanje kvalitativnih parametara "in situ" - T, pH, E, M
8	Uzorkovanje fototrofnih biofilmova za mikrobiološke analize
9	Uzorkovanje mineralnih voda za fizičko-hemijske analize
10	Uzorkovanje naslaga inkrustacije za kristalografske analize
11	Uzorkovanje mineralnih voda za mikrobiološke analize
12	Analiza fototrofnih biofilmova primenom svetlosne mikroskopije
13	Analiza fototrofnih biofilmova primenom SEM-EDS mikroskopije
14	Izrada kompletnih fizičko-hemijskih analiza mineralnih voda
15	Analiza naslaga inkrustacije primenom rendgenske difrakcije praha
16	Testiranje mineralnih voda primenom BART testera
17	Određivanje primarne produkcije mikroorganizama
18	Praćenje razvoja mikrobioloških procesa na bunarima
19	Kompletna obrada dobijenih rezultata, tumačenje i diskusija
20	Predlog daljih mera i zaključak
21	Izrada tekstualnog i grafičkog dela predložene doktorske disertacije
22	Koordinacija i menadžment doktorske disertacije
23	Monitoring
24	Izveštavanje

Legenda:

	- Kabinetski rad
	- Terenski rad
	- Laboratorijski rad
	- Terenski rad (uzorkovanje)
	- Koordinacija aktivnosti (kabinetski, terenski i laboratorijski rad)

The grid is organized into five yearly sections, each with 12 columns representing months (J, F, M, A, M, J, J, A, S, O, N, D) and multiple rows representing weeks. The sections are labeled 2015, 2016, 2017, 2018, and 2019. The grid is used for recording weekly data, with some cells shaded in light blue and others in light green.

