

Биолошки факултет
Број захтева: 50/147-1
Датум: 15. 7. 2026.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на одлуку о прихватању теме докторске дисертације и о одређивању ментора

Молимо да, сходно чл. 48 ст. 5 тач. 3) Статута Универзитета у Београду („Гласник Универзитета“ бр. 201/2018, 207/2019, 213/2020, 214/2020, 217/2020, 230/21, 232/22, 233/22 и 236/22), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације:

„Оптимизација метода метабаркодирања за одређивање диверзитета фитопланктонских заједница језерских екосистема”

НАУЧНА ОБЛАСТ: Биолошке науке.

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног родитеља и презиме кандидата:

Кристина И. Петровић

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета, студијски програм):

Универзитет у Београду - Биолошки факултет.

3. Година дипломирања: 2022.

4. Година уписа на докторске студије: 2023/2024.

Универзитет у Београду - Биолошки факултет

5. Назив студијског програма докторских студија: Молекуларна биологија, модул: Молекуларна генетика и геномика.

6. Датум подношења пријаве теме докторске дисертације: 1. 6. 2026.

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

А:

Име и презиме ментора: **др Милош Ћирић,**

Звање: виши научни сарадник, Универзитет у Београду - Институт за хемију, технологију и металургију, Институт од националног значаја за Републику Србију.

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Marković, A., Schneider, S. C., Vidaković, D., **Ćirić, M.**, Petrović, V. Milovanović, Ž., d'Auriac, M. A. and Ballot, A. (2026) Detection of charophyte algae (Characeae) in lakes using eDNA metabarcoding. *Global Ecology and Conservation* 68. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2351989426001770> (M21)
2. Tapolczai, K., Rimet, F., **Ćirić, M.**, Ballot, A., Laplace-Tretyure, C., Alric, B. (2025) A novel framework for phytoplankton biomonitoring: Trait assignment of 23S rRNA sequences. *Ecological Indicators* 173, 113361-113361. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2025.113361> (M21a)
3. Vlaović, L., Lemonnier, C., Alric, B., Rimet, F., **Ćirić, M.**, Miletić, S., Milovanović, Ž., Petrović, V. and Vidaković, D. (2025) Diatom metabarcoding vs. morphology in monitoring freshwater and saline lakes in Serbia. *Front. Ecol. Evol.* 13:1677773. <https://doi.org/10.3389/fevo.2025.1677773> (M21)
4. Gavrilović, R., B., Petrović, G., T., Radovanović, B., T., Gavrić, P., J., Despotović, G., S., Krizmanić, I., I., **Ćirić, D.**, M., Prokić, D., M. (2021). Hepatic oxidative stress and neurotoxicity in Pelophylax kl. esculentus frogs: Influence of long-term exposure to a cyanobacterial bloom. *Science of the Total Environment* 750, 141569.(M21a+) <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969720350981>
5. Vidaković, D., Dimkić, I., Krizmanić, J., Janakijev, T., Gavrilović, B. and **Ćirić, M.** (2024): Diatom and Bacterial Communities in Saline Habitats (Vojvodina, Serbia). *Wetlands* 44, 55. <https://doi.org/10.1007/s13157-024-01809-4> (M22)

Б:

Име и презиме ментора: **др Јован Пешовић,**

Звање: доцент, Универзитет у Београду – Биолошки факултет.

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Patiño-Guillén G, **Pešović J**, Panić M, Earle M, Ninković A, Petrușca S, Savić-Pavićević D, Keyser UF, Bošković F. Quantification of disease-associated RNA tandem repeats by nanopore sensing. *Nat Commun.* 2026. doi: 10.1038/s41467-026-72819-5.

2. Radenković L, Karanović J, Pantović-Stefanović M, Lazić D, Brajušković G, Ivković M, **Pešović J**, Savić-Pavićević D. Dynamic Model of Serotonin Presynapse and Its Application to Suicide Attempt in Patients with Bipolar Disorder. *Int J Mol Sci*. 2025;26(9):4085.
3. Garai N, Madić S, Ivanović V, Palibrk A, **Pesović J**, Brkusanin M, Basta I, Perić S, Savić-Pavićević D. Plasma miR-150-5p as a biomarker for immunosuppressive therapy response in acetylcholine receptor positive myasthenia gravis: a long-term prospective longitudinal study. *Pharmacol Res*. 2026;223:108078.
4. Patiño-Guillén G, **Pešović J**, Panić M, Savić-Pavićević D, Bošković F, Keyser UF. Single-molecule RNA sizing enables quantitative analysis of alternative transcription termination. *Nature Communication*. 2024; 15(1):1699.
5. **Pešović J**, Perić S, Brkušanin M, Brajušković G, Rakočević-Stojanović V, Savić-Pavićević D. Repeat Interruptions Modify Age at Onset in Myotonic Dystrophy Type 1 by Stabilizing *DMPK* Expansions in Somatic Cells. *Frontiers in Genetics*. 2018; 9:601.

Обавештамо вас да је Наставно-научно веће Универзитета у Београду-Биолошког факултета, на седници одржаној 15. 7. 2026. год. размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Љубиша Станисављевић

Прилог:

1. Предлог теме докторске дисертације са образложењем.
2. Акт надлежног тела факултета о подобности теме за израду докторске дисертације.
3. Електронска верзија



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
БИОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Студентски трг 16
11000 БЕОГРАД
Република СРБИЈА
Тел: +381 11 2186 635
Факс: +381 11 2638 500
Е-пошта: dekanat@bio.bg.ac.rs

50/147 - 15. 7. 2026.

На основу члана 96. Закона о високом образовању, члана 62. став 1. тачка 12. Статута Универзитета у Београду-Биолошког факултета и члана 29. Правилника о докторским студијама на Универзитету у Београду-Биолошком факултету, бр: 15/276 од 7. 9. 2018; 15/122 од 14. 6. 2019.; 15/132 од 11. 9. 2020. године, Наставно-научно веће Факултета, на IX редовној седници одржаној 15. 7. 2026. године, донело је

О Д Л У К У

о прихватању теме докторске дисертације и одређивању ментора

На основу Извештаја Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације прихвата се тема докторске дисертације и одређује ментор кандидату:

Кристини И. Петровић, мастер биолог, студијског програма докторских студија: Молекуларна биологија, модул: Молекуларна генетика и геномика, под називом:

„Оптимизација метода метабаркодирања за одређивање диверзитета фитопланктонских заједница језерских екосистема”

За ментора се одређује:

1. др Милош Тирић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду - Институт за хемију, технологију и металургију, Институт од националног значаја за Републику Србију,
2. др Јован Пешовић, доцент, Универзитет у Београду – Биолошки факултет.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Љубиша Станисављевић

Доставити:

- Универзитету у Београду,
- докторанту,
- ментору;
- Стручној служби Факултета

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На VIII редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду одржаној 15. 6. 2026. године, одређени смо у Комисију за оцену испуњености услова и научне заснованости предложене теме за израду докторске дисертације **Кристине И. Петровић**, под насловом: „Компаративна анализа различитих технологија секвенцирања у метабаркодирењу фитопланктонских заједница, уз поређење са конвенционалним микроскопским приступом у одређивању њихове структуре”.

На основу поднете документације и увида у досадашњи рад **Кристине И. Петровић**, Комисија подноси Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду следећи:

ИЗВЕШТАЈ

А. Биографија:

Општи подаци:

Име, средње слово и презиме: **Кристине И. Петровић**

Датум и место рођења: 9. 2. 2000. године, Београд, Србија

Образовање:

- 2023 – и даље Докторске академске студије, студијски програм Молекуларна биологија, модул Молекуларна биологија (подмодул Молекуларна генетика и геномика), Универзитет у Београду – Биолошки факултет
- 2022 – 2023. Мастер академске студије, студијски програм Молекуларна биологија и физиологија, модул Геномика, Универзитет у Београду – Биолошки факултет
- 2018 – 2022. Основне академске студије, студијски програм Биологија, модул Молекуларна биологија и физиологија, Универзитет у Београду – Биолошки факултет

Датуми именовања у истраживачка звања:

12. 4. 2024. – Истраживач приправник

Запослење:

1. 6. 2024. – Истраживач приправник – Универзитет у Београду, Институт за хемију, технологију и металургију – Институт од националног значаја за Републику Србију, Центар за хемију

Пројекти:

Јануар 2026 – и даље “Reinforcing network for enriched freshwater phytoplankton reference barcoding (REFBAR)“, финансиран у оквиру програма Marie Skłodowska-Curie Actions (MSCA Staff Exchanges), European Union’s Horizon Europe research and innovation programme, број пројекта 101236590, <https://cordis.europa.eu/project/id/101236590>

Мај 2026 – мај 2027. **“Uncovering Bat Diets in Serbian Farmlands: A DNA Metabarcoding Study from the Deliblato Sands Protected Area”** финансиран од стране Bat Conservation International, Student Research Scholarship for Global Bat Conservation. Grant Number SS2611

Јун 2024. – септембар 2025. **“Boosting Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy in Water Biomonitoring (BIOLAWEB)”** финансиран у оквиру програма European Union’s Horizon Europe research and innovation, grant agreement No 101079234.
<https://cordis.europa.eu/project/id/101079234>

Међународна усавршавања

4. 5. 2025 – 25. 5. 2025. Кратки истраживачки боравак у лимнолошком истраживачком институту на Балатону (Balaton Limnological Research Institute/ Balatoni Limnológiai Kutatóintézet), Мађарска

4. 11. 2024. – 22.11.2024. Кратки истраживачки боравак на институту UMR Carrtel – INRAE – Université Savoie Mont-Blanc, Thonon les Bains, Француска

Мај 2023. Кратки истраживачки боравак на институту НИПС (National Institute for Physiological Sciences) у граду Окази, Јапан

Јануар – Фебруар 2022. Кратки истраживачки боравак на институту Instituto Gulbenkian Ciência у граду Оеиас, Португал

Август 2021. Кратки истраживачки боравак на институту Instituto Gulbenkian Ciência у граду Оеиас, Португал

Страни језици:

Енглески језик – напредни ниво (CPE, Certificate of Proficiency in English – Ц2)

Немачки језик – основни ниво

Чланство у научним друштвима:

/

Посебне активности и награде:

- Октобар 2024 – јул 2025. Стипендија „MGI/Complete Genomics – Др Раде Дрманац” за студенте који дају допринос развоју области геномике
- 2020–2024 Стипендија Министарства просвете за изузетно надарене студенте
- 2019–2020 Стипендија Министарства просвете за студенте са просечном оценом изнад 9.00

Б) Библиографија:

Б1. Радови објављени у врхунском међународним часописима (M21)

Nemanja Garai, **Kristina Petrović**, Stojan Perić, Ivana Đorđević, Jovan Pešović, Miloš Brkušanin, Goran Brajušković, Dragana Lavrić, Slobodan Apostoloski, Ivana Basta, Vladimir M. Jovanović, Dušanka Savić-Pavićević (2025). Causal Variants in CHRNA1 and CHRNA1 Genes for Anti-acetylcholine Receptor Antibody Positive Myasthenia Gravis: Evidence from Bayesian Fine-

Mapping and Genetic Association Study. *Molecular Neurobiology* 62(9):11286-11296. [doi: 10.1007/s12035-025-04958-7](https://doi.org/10.1007/s12035-025-04958-7).

Б2. Радови објављени у истакнутим међународним часописима (М22)

Kristina Petrović, Ana Graovac, Jelena Knežević, Vesna Karadžić, Ivana Trbojević, Olga Jakovljević, Slađana Popović (2025). Four seasons of the phototrophic biofilms at the cave entrance zone of Petnica Cave. *Ecological Research* 40(5). <https://doi.org/10.1111/1440-1703.12564>

Б3. Радови објављени у водећим националним часопису категорије (М51)

Slađana Popović, **Kristina Petrović**, Dušica Trnavac Bogdanović, Dragana Milošević, Ana Graovac, Ivana Trbojević, Gordana Subakov Simić (2021). "Cyanobacteria and algae from biofilm at the entrance zone of Petnica cave. *Matica Srpska J. Nat. Sci.*, 140:71-84. <https://doi.org/10.2298/ZMSPN2140071P>

Б4. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја штампана у целиности

/

Б5. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја штампана у изводу (М34)

Kristina Petrović, Clarisse Lemonnier, Benjamin Alric, Frédéric Rimet, Danijela Vidaković, Miloš Ćirić (2025). Assessing the efficiency of 23S rRNA metabarcoding in characterising phytoplankton community structure using mock communities. *6th Balkan Conference on BioSciences*, Book of abstracts (70), 30-31 October, Plovdiv, Bulgaria

Kristina Petrović, Clarisse Lemonnier, Benjamin Alric, Andreas Ballot, Frédéric Rimet, Jelena Avdalović, Srđan Miletic, Željka Milovanović, Vladimir Petrović, Miloš Ćirić (2025). eDNA-based assessment of phytoplankton community structure and dynamics in a saline lake in Serbia: comparison with microscopy-based method. *AquaEcOmics meeting*, Book of abstracts (92-93), 17-20 March, Evian-les-Bains, France, <https://doi.org/10.57745/VBSHUO>

Kristina Petrović, Nemanja Garai, Dušanka Savić-Pavićević, Vladimir M. Jovanović (2023). Bioinformatical fine-mapping of TNFRSF11A locus identified rs4574025 and rs4369774 to be potentially causal variants for Myasthenia gravis. *The Second Congress of Molecular Biologists of Serbia - CoMBoS2*, Book of abstracts (87), 06-08 October, Belgrade, Serbia

Kristina Petrović, Ana Graovac, Gordana Subakov Simić, Slađana Popović (2023). Examination Of Phototrophic Microorganisms In Biofilms From The Entrance Zone Of Petnica Cave During Winter And Spring 2022. *Symposium in Biology and Life Sciences (SiSB)*, Book of abstracts (30), 27-28 May, Zagreb, Croatia, ISSN 2623-6141

Б6. Саопштења са скупова од националног значаја штампана у целини (М63)

Miloš Ćirić, Clarisse Lemonnier, Benjamin Alric, Srđan Miletic, **Kristina Petrović**, Jelena Avdalović, Vladimir Petrović, Željka Milovanović, Frédéric Rimet, Andreas Ballot (2025). Primena

metabarkodinga u identifikaciji fitoplanktona slanih jezera. 54. *godišnja konferencija o aktuelnim problemima korišćenja i zaštite voda*, Zbornik radova (275-282), 16-18 Jun, Kopaonik, Srbija

В. Тема докторске дисертације:

Наслов дисертације:

Након разматрања предлога и садржаја теме, Комисија предлаже следећи наслов:

„Оптимизација метода метабаркодирања за одређивање диверзитета фитопланктонских заједница језерских екосистема”.

Полазне основе:

Слатководни екосистеми припадају групи најугроженијих станишта на свету (1). Упркос значајним напорима управљача, чак 60% површинских вода у Европи још увек није достигло добар еколошки статус (2). Мониторинг биодиверзитета било да се ради о алгама, рибама или макрофитама је неопходан како би се одредио еколошки статус површинских вода и испратиле његове промене. Слатководни организми нестају дупло брже у поређењу са моринским и копненим, и најмање 33% ових врста су на граници истребљења према IUCN-овој Црвеној листи (3). Организми који су превише ситни да би се видели голим оком, као што су микроскопске алге, су у нарочитом ризику, пошто их управљачи често занемарују у својим програмима заштите биодиверзитета. Ипак, Оквирна директива о водама Европске уније укључује фитопланктон као обавезни биолошки елемент квалитета, нарочито у језерима, због његове осетљивости на различите антропогене притиске.

Упркос широкој заступљености у националним програмима праћења квалитета воде, постоје многобројни изазови у ефикасном мониторингу фитопланктона у језерима и другим слатководним екосистемама. Прво, идентификација и квантификација фитопланктона још увек је углавном заснована на конвенционалном приступу који подразумева вишечасовно таложење узорка и употребу инвертног микроскопа и таксономских кључева (4). Друго, фитопланктон је комплексна заједница различитих група алги (нпр. зелених, силикатних итд.) као и цијанобактерија, па коректна таксономска експертиза захтева дугогодишње искуство и веома специјализовано знање.

Како би се превазишли поменути изазови и пронашла бржа алтернатива морфолошком приступу, развијена је генетичка метода заснована на ДНК секвенци специфичног гена (енг. *marker gene*) коју зовемо баркод (5). Та секвенца је довољно конзервисана да је заступљена код свих организама фитопланктона, а опет довољно варијабилна да бисмо међусобно разликовали таксоне у овој еколошкој групи. Метабаркодирање је метода истовременог читавања великог броја секвенци из сложених заједница врста које поседују одређени ДНК баркод и последних година бележи убрзани напредак као резултат модернизације технологија секвенцирања и повећања рачунарске снаге. Данас је могуће секвенцирати стотине милиона ДНК молекула истовремено са прецизношћу од 99,9% коришћењем секвенцирања високог протока (енг. *high throughput sequencing*), као што је *Illumina* технологија. Међутим, управо ове технологије су постале уско грло у генетичким анализама због дугих времена чекања услужног секвенцирања, од неколико недеља до неколико месеци) и често високих трошкова. Као одговор на овај изазов, појављује се алтернатива у виду бржег и приступачнијег секвенцирања треће генерације (енг. *third-generation sequencing*) која је позната и као секвенцирање дугачких читавања (енг. *long-read sequencing*). У почетку је главни недостатак ове технологије секвенцирања био виши ниво грешке у поређењу са *Illumina* технологијом, али је последњих година ниво грешке приликом читавања појединачног нуклеотида смањен и тачност сада износи више

од 99% (6). Уз то, технологија *Oxford Nanopore* може се користити на терену уз позивање база у реалном времену.

Приликом планирања ове докторске дисертације полази се од неколико основних претпоставки:

1. Квалитативни и квантитативни састав заједница фитопланктона који је одређен метабаркодираним представља релативни удео детектованих и таксономски повезаних ДНК секвенци у тим узорцима.
2. Две технологије секвенцирања (*Illumina* и *Oxford Nanopore*) дају различите релативне заступљености ДНК секвенци таксона у узорцима уз висок степен сагласности у детекцији доминантних таксона.
3. Метабаркодираним се добија већи број таксона у срединским узорцима у односу на конвенционални морфолошки приступ. У исто време, генетичким приступом се очекује значајан број секвенци које нису таксономски повезане тј. идентификоване.
4. Разлике у структури заједница фитопланктона које су одређене помоћу две технологије (*Illumina* и *Oxford Nanopore*) су мање у поређењу са разликама сваке од ове две технологије секвенцирања у односу на морфолошки метод.

Предмет докторске дисертације

За одређивање структуре заједнице фитопланктона и прихватљиву процену еколошког статуса уз помоћ метабаркодираних потребно је превазићи неколико изазова. Прво, потребан је универзални баркод (део одређеног гена) који поседују еукариотске и прокариотске ћелије који је довољно варијабилан да би се таксони разликовали до новог врсте. Најближи решење овог проблема је ген који кодира 23S рРНК. Одабран је један његов регион и дизајнирани су одговарајући прајмери ECLA23S_F1/ECLA23S_R1 (7). Друго, референтне базе секвенци су и даље непотпуне, па велики број читавања остаје неидентификован тј. неповезан са одговарајућом таксономијом. Треће, већина истраживања која укључују (мета)баркодираних анализу заснована су на *Illumina* технологији које је ограничено на читавање кратких баркодова (до 550 базних парова после спајања ланаца), који су често недовољно дугачки да би се постигла добра таксономска резолуција.

Предмет докторске дисертације обухвата сва три поменута изазова. Прво, одабрани прајмери ECLA23S_F1/ECLA23S_R1 ће бити примењени са циљем одређивања структуре заједнице фитопланктона у четири језера у Србији. Друго, добијене секвенце дела 23S рРНК гена ће бити упоређене са референтним базама секвенци овог гена чиме ће се повећати њихова релевантност, нарочито у региону југоисточне Европе. Треће, докторска теза ће обухватити упоредну анализу две технологије секвенцирања (*Illumina* и *Oxford Nanopore*) како би се проверила употребљивост технологија секвенцирања треће генерације у анализи структуре заједнице фитопланктона.

Научни циљ истраживања

Општи циљ докторске дисертације је упоредна анализа три приступа у одређивању структуре заједнице фитопланктона која ће послужити као научна основа за унапређење процене еколошког статуса површинских вода:

1. Метабаркодираних – уз секвенцирање *Illumina* технологијом
2. Метабаркодираних – уз секвенцирање *Oxford Nanopore* технологијом
3. Конвенционални – заснован на микроскопији (Utermöhl метода)

Поред општег, дефинисано је седам специфичних циљева:

1. Упоредити очекиване и добијене структуре модел заједница фитопланктона познатог састава применом метабаркодирања са 23S рРНК баркодом и секвенцирањем *Illumina* технологијом.
2. Упоредити очекиване и добијене структуре модел заједница фитопланктона познатог састава применом метабаркодирања са 23S рРНК баркодом и секвенцирањем *Oxford Nanopore* технологијом.
3. Упоредити структуре модел заједница фитопланктона познатог састава добијених метабаркодирањем помоћу две технологије секвенцирања – *Illumina* и *Oxford Nanopore*.
4. Испитати квалитативни и квантитативни састав заједница фитопланктона у два слатководна и два слана језера у Србији применом конвенционалне методе засноване на микроскопији.
5. Испитати квалитативни и квантитативни састав заједница фитопланктона у два слатководна и два слана језера у Србији применом метабаркодирања са 23S рРНК баркодом и секвенцирањем помоћу *Illumina* технологије.
6. Испитати квалитативни и квантитативни састав заједница фитопланктона у два слатководна и два слана језера у Србији применом метабаркодирања са 23S рРНК баркодом и секвенцирањем помоћу *Oxford Nanopore* технологије.
7. Упоредити квалитативни и квантитативни састав заједница фитопланктона у два слатководна и два слана језера у Србији одређених метабаркодирањем (*Illumina* и *Oxford Nanopore* технологија) и конвенционалним морфолошким поступком.

Материјал и методе

Истраживање ће обухватити две групе узорка: 1) заједнице фитопланктона познатог састава (прва фаза) и 2) узорке фитопланктона из два слана и два слатка језера у Србији (друга фаза).

За експерименте у првој фази биће коришћено 11 сојева различитих група алги и цијанобактерија (Cyanobacteria, Chlorophyta, Bacillariophyta) из колекције култура ТСС (Thonon Culture Collection, INRAE институт, Француска). ДНК ових сојева ће бити изолована према протоколу заснованом на комерцијалном прибору за екстракцију Nucleospin Soil Kit (Macherey-Nagel). Након умножавања баркод региона у оквиру гена за 23S рРНК помоћу прајмера ECLA23S_F1/ECLA23S_R1 поступком који је описан ниже, умножени делови ДНК ће бити употребљени за прављење три модел заједнице: а) еквимоларна – са уједначеним уделом ДНК свих таксона, б) линеарна – са градијентом концентрације ДНК од 0,2 до 11% и 3) експоненцијална – са три доминантне врсте чији су делови ДНК заједно заступљени више од 90%, док су друге врсте присутне са ~1% и ~0,01%.

Да би се остварили специфични циљеви 1, 2 и 3 поменуте заједнице ће бити секвенциране коришћењем *Illumina* и *Oxford Nanopore* технологија. Биоинформатичка обрада секвенци добијених *Illumina* технологијом ће бити урађена у RStudio окружењу. Алатом *cutadapt* биће уклоњене секвенце прајмера и *Illumina* адаптера, након чега ће, користећи одговарајуће функције из *dada2* пакета (8), секвенце бити упарене (*mergePairs*), химерне секвенце уклоњене (*removeBimeraDenovo*), и свакој секвенци ампликона биће додељена одговарајућа таксономија (*assignTaxonomy*) поређењем са таксономски идентификованим секвенцама из референтне базе секвенци фитопланктона, *Phytool*. Биоинформатичка обрада секвенци добијених *Oxford Nanopore* технологијом биће спроведена у Linux окружењу коришћењем одговарајућих биоинформатичких алата путем командне линије. Биће

коришћени алати из пакета Dorado (позивање база, исецање прајмера и адаптера), алат NanoStat за проверу квалитета секвенци, алати из пакета OBITools (филтрирање секвенци одговарајуће дужине, креирање концензусне секвенце од већег броја прочитаних секвенци), и алат Kraken2 за таксономску класификацију секвенци поређењем сасеквенцама из референтне базе *Phytool*.

Подаци о бројности таксона у заједницама познатог састава добијени *Illumina* и *Oxford Nanopore* технологијама секвенцирања биће прерачунати у релативне абунданце и упоређени са очекиваним саставом ових заједница. За сваки узорак биће израчунати параметри алфа диверзитета (богатство таксона, Шенонов и Симпсонов индекс), а разлике између технологија секвенцирања биће тестиране т-тестом. Разлике у структури mock заједница биће анализиране на основу Bray–Curtis дистанци, уз примену PERMANOVA анализе за тестирање разлика у саставу заједница и PERMDISP анализе за проверу хомогености дисперзије унутар група. Додатно, ће ANCOVA бити примењена за испитивање односа између очекиваних и добијених релативних абунданци код различитих технологија секвенцирања.

Да би се остварили специфични циљеви 4, 5, 6 и 7, друга група узорака биће сакупљена из два слана, Плава бања и Печена слатина, и два слатководна језера, Савско и Марковачко језеро, током три сезоне (пролеће, лето и јесен) и са четири просторне тачке. Поред узорака за конвенционалну микроскопску анализу, на свим тачкама ће бити прикупљени узорци за анализу срединске ДНК. Такође, *in situ* ће бити мерени температура воде, рН, провидност и растворени кисеоник, а биће узети и узорци воде за хемијске анализе.

Узорци за квалитативну анализу фитопланктона биће сакупљени фитопланктонском мрежицом (промер окаца 20 μm). Идентификација алги и цијанобактерија ће бити обављена помоћу микроскопа Leica DM750 (Leica Microsystems) са објективом HI PLAN 40/0.65 (увеличање 400 $\times$) уз коришћење општеприхваћених таксономских кључева у Институту за хемију, технологију и металургију, Универзитета у Београду. Квантитативна анализа фитопланктона биће обављена из нефилтрираних интегралних узорака еуфотичне зоне фиксираних Lugolovim раствором. Бројање таксона биће обављено помоћу инвертног микроскопа INVE 500T (COLO Lab Experts, Slovenija) према Utermöhl методи (9) након седиментације у коморици (Hydro-Bios, Kiel, Germany) у трајању од 24 сата. На крају, биоволумен појединачних таксона биће одређен као производ њихове абунданце и запремине ћелија која ће бити прерачуната на основу геометријске апроксимације њиховог облика и података добијених морфометријским мерењима (10).

Метабаркодирање ће бити обављено у пет корака: 1) сакупљање и филтрирање узорака, 2) изолација срединске ДНК, 3) умножавање баркод региона у оквиру гена за 23S рРНК, 4) секвенцирање и 5) биоинформатичка обрада секвенци. Узорци воде (до 250 mL) биће филтрирани на терену помоћу стерилног шприца и Sterivex филтер (Millipore) промера 0,45 μm након чега ће бити чувани у пуферу за конзервацију следећег састава: EDTA 40 mM, Tris-HCl 50 mM (pH 8) и сахароза 0,75 M. Изолација ДНК биће обављена у лабораторији UMR Carrel (INRAE институт, Француска) према протоколу заснованом на комерцијалном прибору за екстракцију Nucleospin Soil Kit (Macherey-Nagel). Ланчана реакција полимеразе (енг. *Polymerase chain reaction*) ће бити обављена у реакционој смеши укупне запремине 25 μL , која садржи по 5 μL оба прајмера (1 μM), 12,5 μL KAPA HiFi HotStart Ready Mix (Roche Molecular Systems, Inc) и 2,5 μL ДНК узорка. Температурни профил реакције ће обухватати иницијалну денатурацију у трајању од 3 минута (95°C), затим 30 циклуса: денатурација матрице у трајању од 30 секунди (95°C), везивање прајмера током 30 секунди (58°C), синтеза ланаца у трајању од 30 секунди (72°C) и на крају финалну елонгацију током 5 минута на 72°C. Након што сваки узорак буде подељен на два подузорка, једна група ће бити услужно секвенцирана уз помоћ MiSeq платформе (*Illumina* технологија). Друга група ће бити секвенцирана на *Oxford Nanopore Technology* MinION уређају у оквиру Центра за Хуману Молекуларну Генетику у Београду. Биоинформатичка обрада добијених секвенци помоћу *Illumina* и *Oxford Nanopore* технологија биће обављена на претходно описан начин.

Подаци о релативној заступљености таксона у узорцима из језера, добијени конвенционалним микроскопским приступом и метабаркодираним применом две технологије секвенцирања, биће искоришћени за израчунавање параметара алфа диверзитета (богатство таксона, Шенонов и Симпсонов индекс). Разлике у алфа диверзитету између метода биће тестиране т-тестом. Бета диверзитет биће анализиран на основу Bray–Curtis дистанци, уз примену PERMANOVA анализе за тестирање разлика у саставу заједница и PERMDISP анализе за проверу хомогености дисперзије унутар група. Додатно, коинерциона анализа (CoIA) биће примењена за испитивање степена сагласности између структура заједница добијених микроскопском анализом и метабаркодираним применом различитих технологија секвенцирања.

Очекивани резултати и научни допринос

Испуњавање општег и седам специфичних научних циљева докторске дисертације који ће бити публиковани у рецензираним међународним часописима ће послужити као научна основа за унапређење процене еколошког статуса површинских вода (фитопланктон – биолошки елемент квалитета воде) у земљама чланицама Европске уније (ЕУ), као и за упућивање препорука Агенцији за заштиту животне средине Републике Србије са сврхом синхронизације са ЕУ праксом. Очекује се да:

1. Добијена тј. одређена структура модел заједница фитопланктона познатог састава применом метабаркодираним са 23S рРНК баркодом и секвенцирањем *Illumina* технологијом одговара очекиваној (дефинисаној планом огледа).
2. Добијена тј. одређена структура модел заједница фитопланктона познатог састава применом метабаркодираним са 23S рРНК баркодом и секвенцирањем *Oxford Nanopore* технологијом одговара очекиваној (дефинисаној планом огледа).
3. Добијена тј. одређена структура модел заједница фитопланктона познатог састава применом метабаркодираним са 23S рРНК баркодом и секвенцирањем *Illumina* технологијом буде ближа очекиваној структури заједница у поређењу са секвенцирањем *Oxford Nanopore* технологијом.
4. Квалитативни и квантитативни састав заједница фитопланктона у два слатководна и два слана језера у Србији буде описан применом конвенционалне методе засноване на микроскопији.
5. Квалитативни и квантитативни састав заједница фитопланктона у два слатководна и два слана језера у Србији буде описан применом метабаркодираним са 23S рРНК баркодом и секвенцирањем *Illumina* технологијом.
6. Квалитативни и квантитативни састав заједница фитопланктона у два слатководна и два слана језера у Србији буде описан применом метабаркодираним са 23S рРНК баркодом и секвенцирањем *Oxford Nanopore* технологијом.
7. Квалитативни и квантитативни састав заједница фитопланктона у два слатководна и два слана језера у Србији који је добијен применом метабаркодираним са 23S рРНК баркодом и секвенцирањем *Illumina* и *Oxford Nanopore* технологијама покаже само делимично преклапање са заједницом која је одређена конвенционалном методом услед непотпуности референтне базе секвенци.

Најважнији литературни подаци који подржавају тему (до 10 референци)

1. Vári Á, Podschun SA, Erős T, Hein T, Pataki B, Iojă IC, et al. Freshwater systems and ecosystem services: Challenges and chances for cross-fertilization of disciplines. *Ambio*. 2022 Jan;51(1):135–51. doi:10.1007/s13280-021-01556-4
2. DNAquaIMG: Innovating transnational aquatic biodiversity monitoring using high-throughput DNA tools and automated image recognition [Internet]. [cited 2026 Jun 19]. Available from: <https://dnaquaimg.eu/>
3. Lynch AJ, Cooke SJ, Arthington AH, Baigun C, Bossenbroek L, Dickens C, et al. People need freshwater biodiversity. *WIREs Water*. 2023 May;10(3):e1633. doi:10.1002/wat2.1633
4. Nicolosi Gelis MM, Canino A, Bouchez A, Domaizon I, Laplace-Treytore C, Rimet F, et al. Assessing the relevance of DNA metabarcoding compared to morphological identification for lake phytoplankton monitoring. *Science of The Total Environment*. 2024 Mar;914:169774. doi:10.1016/j.scitotenv.2023.169774
5. Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc R Soc Lond B*. 2003 Feb 7;270(1512):313–21. doi:10.1098/rspb.2002.2218
6. Kim BY, Gellert HR, Church SH, Suvorov A, Anderson SS, Barmina O, et al. Single-fly genome assemblies fill major phylogenomic gaps across the Drosophilidae Tree of Life. Jiggins CD, editor. *PLoS Biol*. 2024 Jul 18;22(7):e3002697. doi:10.1371/journal.pbio.3002697
7. Canino A, Lemonnier C, Alric B, Bouchez A, Domaizon I, Laplace-Treytore C, et al. Which barcode to decipher freshwater microalgal assemblages? Tests on mock communities. *Int J Limn*. 2023;59:8. doi:10.1051/limn/2023008
8. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*. 2016 Jul;13(7):581–3. doi:10.1038/nmeth.3869
9. Utermöhl H. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik: Mit 1 Tabelle und 15 abbildungen im Text und auf 1 Tafel. *SIL Communications*, 1953-1996. 1958 Jan;9(1):1–38. doi:10.1080/05384680.1958.11904091
10. Hillebrand H, Dürselen C, Kirschtel D, Pollinger U, Zohary T. BIOVOLUME CALCULATION FOR PELAGIC AND BENTHIC MICROALGAE. *Journal of Phycology*. 1999 Apr;35(2):403–24. doi:10.1046/j.1529-8817.1999.3520403.x

Г. Закључак и предлог:

Увидом у поглавља у којима је докторандкиња **Кристина И. Петровић** образложила пријаву теме своје докторске дисертације, Комисија утврђује да је предмет научног истраживања оправдан и да су основне хипотезе добро дефинисане. Општи циљ и седам специфичних циљева су прецизно одређени, реални и оствариви помоћу предложене методологије. Реализацијом истраживања у оквиру предложене докторске дисертације биће остварен напредак у примени приступа метабаркодирања у одређивању структуре фитопланктонских заједница.

Имајући у виду горе наведени закључак, Комисија предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета да прихвати ову тему и одобри израду предложене докторске дисертације под измењеним насловом **„Оптимизација метода метабаркодирања за одређивање диверзитета фитопланктонских заједница језерских екосистема”**.

Комисија предлаже да ментори буду: др Милош Ћирић, виши научни сарадник, Института за хемију, технологију и металургију – Института од националног значаја за Републику Србију Универзитета у Београду и др Јован Пешовић, доцент Биолошког факултета Универзитета у Београду.

Београд, 23. 6. 2026. године

Комисија:

др Милош Ћирић, виши научни сарадник
Универзитет у Београду,
Институт за хемију, технологију и металургију
Институт од националног значаја за Републику Србију

др Јован Пешовић, доцент и виши научни сарадник
Универзитет у Београду – Биолошки факултет

др Слађана Поповић, виши научни сарадник
Универзитет у Београду – Биолошки факултет