

UNIVERZITET CRNE GORE

VIJEĆU PRIRODNO-MATEMATIČKOG FAKULTETA

PREDMET: Izvještaj Komisije o podobnosti teme za izradu magistarskog rada, pod nazivom **“Struktura mikrobnih zajednica i fizičko-hemijski profil vodoizvorišta Mareza”**, kandidatkinje Sabine Đozgić, dipl. biologa.

Na osnovu člana 40 Statuta Univerziteta Crne Gore, a u vezi sa članom 11 Pravilnika o studiranju na postdiplomskim studijama, na sjednici Vijeća Prirodno-matematičkog fakulteta imenovali smo članove komisije za ocjenu teme magistarskog rada, pod nazivom **“Struktura mikrobnih zajednica i fizičko-hemijski profil vodoizvorišta Mareza”**, kandidatkinje Sabine Đozgić, dipl. biologa.

Na osnovu uvida u dostavljenu dokumentaciju podnosimo sledeći

IZVJEŠTAJ

Podaci o kandidatu

Sabina Đozgić rođena je 19.10.1981. godine u Podgorici, Crna Gora. Osnovno obrazovanje je stekla u Osnovnim školama “Marko Miljanov” i “Pavle Rovinski”, a srednje u gimnaziji “Slobodan Škerović” u Podgorici. Prirodno – matematički fakultet, četvorogodišnje studije, završila je 2007. godine. Pripravnički staž obavila je u periodu od 1. aprila 2008. do 1. aprila 2009. godine u preduzeću “Vodovod i kanalizacija” d.o.o. Podgorica, u laboratoriji Uređaja za prečišćavanje otpadnih voda. U tom periodu obučavala se za određivanje fizičko hemijskih parametara u otpadnim vodama i analizu kvaliteta mikrobioloških preparata za formiranje aktivnog mulja na odgovarajućem uređaju. Položila je pripravnički ispit odbranivši rad pod nazivom: “Uloga aktivnog mulja u prečišćavanju otpadnih voda”.

Otvaranjem laboratorije za ispitivanje voda za piće, u okviru istog preduzeća 2011. godine, počela je da radi kao biolog analitičar. Učestvovala je u osnivanju i organizaciji odsjeka za mikrobiološka ispitivanja u okviru laboratorije. Kao glavni biolog analitičar, učestvovala je u ispunjavanju zahtjeva standarda za akreditaciju laboratorije i dobijanju sertifikata o akreditaciji 2013. godine.

Godine 2011. upisala je magistarske studije na smjeru Eksperimentalna biologija i biotehnologija u okviru kojih je u novembru 2013. godine odbranila specijalistički rad pod nazivom: "Monitoring mikrobiološkog kvaliteta vodoizvorišta u okolini Podgorice u ljetnjem i zimskom periodu 2012.godine".

Obrazloženje teme

Naučna oblast

Predložena tema istraživanja obuhvata oblast hemije i mikrobiologije voda kraških izvora.

Predmet rada

Predmet istraživanja ovog rada je ispitivanje kvaliteta voda kaptiranih izvora i otvorenih izvora vodoizvorišta Mareza. Za ispitivanje kvaliteta voda pratiće se struktura mikrobnih zajednica i fizičko-hemijske karakteristike vodenog tijela izvorišta. U Laboratoriji za ispitivanje vode za piće Vodovoda Podgorica se već duže vrijeme prate parametri fizičko-hemijskih analiza i bakterioloških analiza ovih voda. Međutim, u ovim istraživanjima se po prvi put prati genetički profil mikrobnih zajednica i njihova struktura.

Kao objekat istraživanja biće analizirana tri kaptirana izvora Mareza i to: Pod vrbom, Velje oko i Oko, kao i otvoreni izvor koji se nalazi u njihovoj neposrednoj blizini - Ljeskovac.

Naučni cilj rada

Cilj ovih istraživanja je da se utvrdi hemijski i mikrobiološki kvalitet voda odabranih izvora na vodoizvorištu Mareza.

Svaka kaptaža ima odgovarajuću, zakonom propisanu zonu sanitarne zaštite, ali ipak postoji opasnost od oborinskih voda, od blizine naselja i otpadnih komunalnih voda tih naselja, blizine obradivog zemljišta i razvoja stočarstva u tom području.

Uzimajući u obzir navedeno, glavni ciljevi istraživanja su:

- Sagledati stanje vodoizvorišta Mareza i odabranih izvora ovog lokaliteta.
- Odrediti kvalitet voda na tri kaptaže i jednom otvorenom izvoru vodoizvorišta Mareza na osnovu mikrobioloških i fizičko-hemijskih indikatora.

- Utvrditi uticaj povećane mutnoće vode, tokom kišnog perioda na povećanje mikroorganizama u vodi.
- Utvrditi strukturu mikrobnih zajednica i genetički diverzitet u izvorskim vodama
- Na osnovu rezultata istraživanja predložiti mjere zaštite vodoizvorišta Mareza, što je bio i ujedno motiv ovih istraživanja.

Očekivani rezultati i naučni doprinos

Očekivani rezultati ovog rada bi trebalo da pokažu:

- ekološki status voda sva četiri izvora, kao i uticaj vremenskih prilika, najčešće obilnih kiša na strukturu mikrobnih zajednica i fizičko-hemijski profil voda;
- značajnu promjenu vrijednosti parametara za vrijeme ekstremnih padavina. U takvim situacijama dolazi do pojave mutnoće koja utiče i na ostale parametre mijenjajući njihove uobičajene vrijednosti, što značajno utiče na kvalitet voda;
- pojavu mnogih indikatorskih mikroorganizama. Posebno u kišnom periodu možemo očekivati značajno povećanje vrijednosti svih parametara;
- raznolikost mikrobioloških zajednica u izvorskim vodama. Možemo očekivati prisustvo mnogih autohtonih rodova bakterija, karakterističnih za život u slatkim vodama. U otvorenim izvorima možemo očekivati prisustvo rodova čiji predstavnici mogu biti opasni po zdravlje ljudi izazivajući mnoga oboljenja.

Naučne metode

1. Za uzorkovanje voda za mikrobiološku analizu koristiće se standardna metoda MEST EN ISO 19458:2013.

2. Za uzorkovanje vode za hemijsku analizu koristiće se standardna metoda MEST EN ISO 5667-3:2013.

3. Za određivanje mikrobioloških parametara koristiće se sledeće metode:

3a) Ukupan broj mikroorganizama u 1ml uzorka vode na 37⁰C i 22⁰C određivaće se metodom nalivanja hranljivog agara u ploče.

3b) Za izdvajanje mikroorganizama iz voda koristiće se metoda membranske filtracije, koja predstavlja vrstu fizičke filtracije gdje tečnost, tj. voda prolazi kroz posebne pore membrane. Metoda membranske filtracije je najpovoljnija metoda za mikrobiološku analizu voda i omogućava kvantitativno određivanje mikroorganizama. Ovom metodom moguće je ispitivanje relativno velikih zapremina vode. Filtracijom vode na površini membranskog filtera ostaju mikroorganizmi i takav filter sa mikroorganizmima se lijepi na hranjivu podlogu.

4. Za određivanje fizičko-hemijskih parametara koristiće se sledeće metode:

4a) Određivanje mutnoće vode - nefelometrijskom metodom.

4b) Određivanje pH - potenciometrijskom metodom.

4c) Određivanje električne provodljivosti vode - konduktometrijskom metodom.

4d) Spektrofotometrijskom metodom određivaće se prisustvo određenih jona u vodi.

4e) Određivanje metala u tragovima koristiće se ICP-OES.

5. Za određivanje strukture mikrobnih zajednica koristiće se tehnike molekularne biologije, umnožavanje 16S rRNA dio molekula DNK pomoću lančane reakcije polimerazom (PCR metoda). PCR produkti će se dalje sekvencirati pomoću Illumina MiSeq platforme u Laboratoriji Kaiserslautern u Njemačkoj. Ovaj dio istraživanja biće urađen u Institutu Ruđer Bošković, u Zagrebu pod rukovodstvom dr Sandija Orlića.

Aktuelnost problematike

Najveći broj ljudi u svijetu, pa tako i u Crnoj Gori, snabdijeva se vodom za piće iz podzemnih voda, najčešće karstnih izvora. Međutim, izvori su podložni mnogim biološkim i hemijskim zagađivačima (Ford i Williams, 2007). U cijelom svijetu zagađenje vodenih tijela patogenim mikroorganizmima i bolesti uzrokovane njima glavna su zabrinutost (Pandey et al., 2014). Fekalna kontaminacija voda ima najveći medicinski značaj jer predstavlja najveću opasnost po zdravlje ljudi (Dalmacija, 2000).

Mikrobne zajednice i njihove strukture su ključni članovi mnogih ekosistema uključujući i vodene ekosisteme (Lagkouvardos et al., 2016). One igraju važnu ulogu u biogeochemijskim ciklusima, kao i u mnogim biološkim procesima. Jedan od razloga za determinisanje i analizu strukture mikrobnih zajednica jeste njihov ogroman diverzitet. Mikrobne grupe sa specifičnim metaboličkim sposobnostima služe kao ekološki relevantni indikatori i biomonitori promjena u funkcionisanju ekosistema.

Fekalna kontaminacija voda za piće je najveća opasnost za zdravlje ljudi, zato voda koja se koristi za ljudsku upotrebu (za piće, pripremu hrane ili za ličnu higijenu) ne smije da sadrži ove

patogene bakterije. Najbolji predstavnik koliformnih fekalnih bakterija je *Escherichia coli* (oko 95% fekalnih koliformnih bakterija je *E. coli*), ali i sojevi rodova *Klebsiella*, *Citrobacter* i *Enterobacter* takođe mogu da pokazuju termotolerantnost i pređu u koliformne fekalne bakterije (Dalmacija et al., 2006). Veoma slične rodu *Escherichia* su predstavnici rodova *Salmonella* i *Shigella*. Jaki su crijevni patogeni, izazivači trbušnog tifusa i dizenterije. Zbog velike sličnosti, možemo reći da *E. coli* služi kao indikator za prisustvo patogenih vrsta iz roda *Salmonella* i *Shigella* (WHO, 2004).

U periodu godine sa dosta padavina, kada je izvjesno bakteriološko zagađenje vode, dolazi i do pojave mutnoće kao indikatora zagađenosti (Pronk et al., 2007). Pored mutnoće, postoje još neki fizičko-hemijski parametri koji ukazuju na bakterijsko zagađenje vode kao što su: prisustvo amonijaka i utrošak kalijum-permanganata. Oba parametra ukazuju na povećanje organskih materija u vodi i prisustva fekalnog zagađenja koje dolazi miješanjem sa otpadnim vodama (Vasić et al., 2013).

Identifikacija i određivanje broja bakterija u vodi vrši se konvencionalnim mikrobiološkim metodama. Ove metode zahtijevaju dosta vremena, veliki broj mikrobioloških podloga i intenzivan rad, a rezultati ne moraju uvijek biti pouzdani. Zato postoje i molekularne metode kojima se na brz i pouzdan način određuje prisustvo, identifikacija i broj bakterija u vodi (Lakićević, 2012).

Ispitivanje prisustva bakterija i njihova identifikacija molekularnim metodama se obično zasniva na genu 16S rRNK. Ta primjena masovnog sekvenciranja 16S rRNK u mnogome je doprinijela poboljšanju tehničkih mogućnosti za opisivanje taksonomije i funkcionalnosti mikrobnih zajednica u vodama (Degnan i Ochman, 2012).

Najčešće korišćena metoda identifikacije u ovom području je lančana reakcija polimerazom (Polymerase Chain Reaction - PCR). Posljednjih godina tehnologija sekvenciranja ILLUMINA pojavila se kao jedna od najpopularnijih tehnologija. Ovom platformom se na brz i jednostavan način analizira veliki broj uzoraka (Karst et al., 2016).

Vodoizvorište Mareza, kao najveći kaptirani kraški izvor u Crnoj Gori, obiluje vodom visokog kvaliteta. Ovako izdašan izvor se koristi za vodosnabdijevanje dva grada, ali i za potrebe raznih grana privrede na tom području. Jedini potencijalni uticaj na vodu Mareze može da ima nekontrolisana gradnja na ovom terenu i okolini koja pretežno utiče na mikrobiološki kvalitet vode (Burić, 2015).

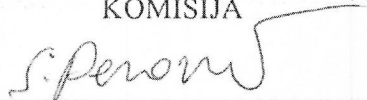
Zbog svega ovoga je nastala ideja za izradom ovog rada, čiji rezultati strukture mikrobnih zajednica i fizičko-hemijskog profila izvorskih voda mogu doprinijeti boljem poznavanju vodoizvorišta Mareza koje je strateški važno za grad Podgoricu.

Zaključak

Uvidom u dostavljeni materijal, Komisija je utvrdila da predložena tema kandidatkinje **Sabine Dozgić** ima jasno definisane ciljeve, metode istraživanja i očekivane rezultate. Stoga sugerišemo Vijeću Prirodno-matematičkog fakulteta, da odobri izradu magistarskog rada **“Struktura mikrobnih zajednica i fizičko-hemijski profil vodoizvorišta Mareza”**.

U Podgorici, 20.04.2021.

KOMISIJA



Dr Svetlana Perović, red. prof., PMF, UCG -mentor



Dr Sandi Orlić, viši naučni saradnik, Institut Ruder Bošković, član



Dr Slađana Krivokapić, van. prof., PMF, UCG, član