

Rooseveltovo trg 6
HR-10 000 Zagreb
Tel. 01 460 62 67
Fax. 01 460 62 86
www.hdbb.hr

HRVATSKO DRUŠTVO ZA BILJNU BIOLOGIJU



POZIV NA MINI SIMPOZIJ HRVATSKOG DRUŠTVA ZA BILJNU BIOLOGIJU

ponedjeljak, 14. prosinca 2020.

On- line preko platforme Microsoft Teams

Program:

- | | |
|-------------|---|
| 10:25-10:30 | Uvodna riječ |
| 10:30-14:30 | Izlaganje predavača |
| 10:30-11:00 | Tamara Vuk, mag. biol. mol. (Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Zagreb):
Metilacijski obrasci genskih regija uročnjaka (<i>Arabidopsis thaliana</i> L.) vezanih proteinima BPM1 i DMS3 |
| 11:00-11:30 | Sandra Vitko, mag. biol. exp. (Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Zagreb):
Utjecaj povišene temperature na biokemijske pokazatelje oksidacijskog stresa u uročnjaka s promijenjenom ekspresijom gena <i>bpm1</i> |
| 11:30-12:00 | Renata Biba, mag. educ. biol. et chem. (Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Zagreb):
Utjecaj nanočestica srebra stabiliziranih različitim omotačima na isključavanje i pojavu oksidacijskog stresa u klijancima duhana (<i>Nicotiana tabacum</i> L.) |
| 12:00-13:00 | Pauza |
| 13:00-13:30 | Dr. sc. Iva Pavlović (Institut Ruđer Bošković, Zagreb):
Interakcija indolnih glukozinolata i auksina u kupusnjačama tijekom solnog stresa |
| 13:30-14:00 | Sanja Grubišić, mag. ing. agr. (Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek):
Bioraspoloživost makroelemenata i mikroelemenata iz soka pšenične trave (<i>Triticum aestivum</i> L.) |
| 14:00-14:30 | Jelena Ravlić, mag. biol. (Agrigenetics d.o.o. Osijek; Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek):
Oplemenjivanje pšenice |

❖ **Tamara Vuk, mag. biol. mol.**

Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Horvatovac 102a, Zagreb

Metilacijski obrasci genskih regija uročnjaka (*Arabidopsis thaliana* L.) vezanih proteinima BPM1 i DMS3

Protein BPM1 uročnjaka pripada porodici proteina s domenama MATH (*Meprin and TRAF Homology*) i BTB (*Bric-A-Brac, Tramtrack, Broad Complex*) s utvrđenom ulogom u procesu proteasomske razgradnje ovisne o ubikvitinu. Dokazana je interakcija proteina BPM1 s proteinima DMS3 i RDM1 koji kao komponente kompleksa DDR reguliraju vezanje polimeraze V na ciljane sljedove DNA tijekom metilacije DNA *de novo* posredovane malim molekulama RNA (RdDM). Mehanizam RdDM osigurava uspostavu metilacije u sva tri poznata konteksta, kao i održavanje asimetričnog konteksta metilacije CHH specifičnog za biljke.

Metodom kromatinske imunoprecipitacije identificirane su zajedničke vezne regije proteina BPM1 i DMS3 na genomu vrste *Arabidopsis thaliana* L. Analiza je provedena s posebnim interesom za vezna mjesta prisutna u promotorskim regijama gena. Na temelju dobivenih rezultata selektirani su geni za daljnje analize metilacije i ekspresije. Metilacijski obrasci gena *FWA* i *CML41* analizirani su bisulfitnom konverzijom, postbisulfitnom PCR-reakcijom i sekvenciranjem, te obrađeni programom CyMATE. Dobiveni profili uspoređeni su između linija divljeg tipa, transgeničnih linija uročnjaka s pojačanom ekspresijom proteina BPM1, te linije s nefunkcionalnim proteinom DMS3. Na temelju utvrđenih obrazaca identificirane su varijabilne metilacijske regije koje će se dalje analizirati metodom pirosekvenciranja u različitim tipovima tkiva. Metilacijski podaci korelirati će se s ekspresijskim profilima utvrđenim metodom PCR-a u stvarnom vremenu.

❖ **Sandra Vitko, mag. biol. exp.**

Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Horvatovac 102a, Zagreb

Utjecaj povišene temperature na biokemijske pokazatelje oksidacijskog stresa u uročnjaka s promijenjenom ekspresijom gena *bpm1*

U uročnjaka (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) prisutno je šest gena *BPM(1-6)* koji kodiraju proteine s domenama MATH (Meprin i TRAF homologija) i BTB/POZ (Bric-a-Brac, Tramtrack, Broad Complex). Većina proteina iz obitelji MATH-BTB sudjeluje u procesu ubikvitinacije prilikom koje E3 ligaze ovisne o kulinu 3 selektivno ciljaju specifične proteine za razgradnju na proteasomu 26S. Poznato je da protein BPM1, osim regulacije razvojnih procesa, ima važnu ulogu u fenotipskoj i fiziološkoj prilagodljivosti te sposobnosti biljaka da prežive u promjenjivom okolišu. Dosadašnja istraživanja pokazala su da se BPM1 akumulira i stabilizira na povišenoj temperaturi te da su neki od partnera BPM1 proteini koji sudjeluju u odgovoru biljke prilikom djelovanja oksidacijskog stresa. Stoga je cilj ovog rada bio istražiti učinak povišene temperature na biokemijske pokazatelje oksidacijskog stresa u uročnjaku. Klijanci uročnjaka s pojačanom (*oeBPM1*) i utišanom (*amiR-bpm*) ekspresijom gena *BPM1* su zajedno s klijancima divljeg tipa bili izloženi temperaturi od 37 °C tijekom šest sati. Biljni materijal prikupljen je u dvije vremenske točke – odmah nakon isteka toplotnog stresa od šest sati te nakon 24-satnog oporavka na temperaturi uzgoja (24 °C). U

tkivu je izmjeren sadržaj vodikovog peroksida (H_2O_2) i prolina, stupanj lipidne peroksidacije, kao i aktivnost antioksidacijskih enzima katalaze (CAT), superoksid dismutaze (SOD) te askorbat (APX) i gvajakol (GPOD) peroksidaza. Nakon izlaganja temperaturi od 37 °C, kod sve tri linije izmjeren je niži sadržaj prolina u odnosu na kontrolne grupe. Klijanci linije *oeBPM1* 24 sata nakon izlaganja toplotnom stresu pokazali su drugačiju dinamiku u sadržaju H_2O_2 te aktivnosti enzima APX u odnosu na klijance divljeg tipa te linije *amiR-bpm*. Dobiveni rezultati ukazuju na moguću povezanost određenih biokemijskih pokazatelja oksidacijskog stresa s proteinom BPM1.

❖ **Renata Biba, mag. educ. biol. et chem.**

Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Horvatovac 102a, Zagreb

Utjecaj nanočestica srebra stabiliziranih različitim omotačima na isključavanje i pojavu oksidacijskog stresa u klijancima duhana (*Nicotiana tabacum* L.)

Renata Biba, Petra Cvjetko, Karla Košpić, Mirta Tkalec, Petra Peharec Štefanić, Daniel Mark Lyons, Ana-Marija Domijan, Sandra Šikić, Biljana Balen

Jedinstvena fizikalno-kemijska svojstva nanočestica srebra (AgNP) koja im omogućuju izvrsno antimikrobno djelovanje dovela su do njihove pojačane uporabe u industriji, medicini i poljoprivredi te istovremeno izazvala zabrinutost zbog njihove potencijalne toksičnosti. Otpuštanjem AgNP u okoliš započinje njihova transformacija koja dovodi do promijene njihovih svojstava i uvelike otežava razjašnjavanje mehanizma njihova djelovanja. Kroz biljke, AgNP se mogu transportirati i akumulirati u hranidbenim lancima te predstavljati opasnost za cijeli ekosustav. Cilj ovog rada bio je ispitati učinke laboratorijski sintetiziranih AgNP stabiliziranih s dva različita omotača (polivinilpirolidon – PVP i cetiltrimetilamonijev bromid – CTAB), primijenjenih u 25, 50 i 100 μ M koncentracijama, na isključavanje, rani rast i pojavu oksidacijskog stresa u klijancima duhana (*Nicotiana tabacum* L.) i usporediti ih s promjenama koje izaziva ionsko srebro primijenjeno u obliku srebrovog nitrata ($AgNO_3$) u istim koncentracijama. Kako bi se utvrdilo je li toksičnost AgNP posljedica samih nanočestica ili iona Ag^+ koji se s njih otpuštaju, primijenjeni su kombinirani tretmani sa 125, 250 i 500 μ M cisteinom, snažnim ligandom Ag^+ . Pojava oksidacijskog stresa ispitala se fluorimetrijski mjerenjem razine ROS. Oštećenje biomolekula odredilo se mjerenjem lipidne peroksidacije, koncentracije proteinskih karbonila i Comet testom. Aktivnost antioksidacijskih enzima superoksid dismutaze, askorbat peroksidaze, pirogalol peroksidaze i katalaze izmjerena je spektrofotometrijski, dok je aktivnost pojedinih izoformi enzima detektirana nativnom gel elektroforezom i obradom gelova specifičnim supstratima. Promjene u ekspresiji navedenih enzima analizirane su upotrebom specifičnih antitijela nakon prijenosa na membranu (*Western blotting*). Rezultati su pokazali da su AgNP stabilizirane s oba tipa omotača značajno smanjile postotak isključavanja i parametre ranog rasta, iako je nakon tretmana s AgNP-CTAB to bilo jače izraženo. Pri oba AgNP tretmana je izmjeren porast koncentracije ROS. AgNP nisu uzrokovale značajno oštećenje lipida i proteina, ali je najveća primijenjena koncentracija AgNP-CTAB rezultirala oštećenjem molekule DNA. Oba tipa AgNP uzrokovala su aktivaciju antioksidacijskog sustava što je vidljivo u promjenama u aktivnosti i ekspresiji antioksidacijskih enzima. Primjena cisteina uspjela je djelomično smanjiti negativan utjecaj AgNP-PVP, no pri tretmanu s AgNP-CTAB takav je učinak izostao; to ukazuje na razlike u mehanizmu djelovanja različito stabiliziranih AgNP. Uz to, tretmani s

AgNP i AgNO₃ pokazali su samo djelomično sličan fitotoksični učinak, što ukazuje da je učinak AgNP manjim dijelom posljedica otpuštanja Ag⁺ s AgNP, a većim dijelom djelovanja samih nanočestica.

❖ **Dr. sc. Iva Pavlović**

Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, Zagreb

Interakcija indolnih glukozinolata i auksina u kupusnjačama tijekom solnog stresa

Glukozinolati su vrsta specijaliziranih biljnih metabolita prisutni u porodici Brassicaceae. Glukozinolati su dugi niz godina izučavani s aspekta kemijske obrane biljaka tijekom biotskog stresa, no oni ujedno reguliraju rast, razvoj i odgovor na abiotički stres. Razina glukozinolata određena je okolišnim uvjetima i razvojnim stadijem biljke te regulirana fitohormonima. Dijelev se u tri skupine: alifatske, aromatske i indolne. Biosintetizirani glukozinolati su inaktivni, a njihova biološka aktivnost postiže se razgradnjom do aktivni spojeva koji uključuju tiocijanate, izotiocijanate, oksazolidin-tione, epinitrile i nitrile. Kako bi istražili biološku ulogu glukozinolata u odgovoru kupusnjača na solni stres razvili smo preciznu UHPLC-MS/MS za njihovu analizu. Sadržaj i profil glukozinolata određen je u dvije kupusnjače koje se razlikuju u toleranciji na solni stres: *Brassica rapa* ssp. *pekinensis* i *Brassica oleracea* var. *capitata* nakon izlaganja kratkotrajnom intenzivnom salinitetu (200 mM NaCl u trajanju od 3, 6 i 24 sata). Indolni glukozinolati pokazali su najdinamičniji odgovor u obje vrste: akumulaciju pri kraćem vremenu i smanjenje koncentracije porastom vremena izloženosti stresu. Indolni glukozinolati specifični su po tome što dijelev dio biosintetskog puta s hormonom auksinom tj. indol-3-octenom kiselinom (IAA) pri čemu je indol-3-aldoksim (IAOx) mjesto grananja ta dva puta. Također, produkt aktivacije indolnih glukozinolata indol-3-acetonitril (IAN) može se pretvoriti u IAA djelovanjem nitrilaza. Kako bi pokazali postoji li interakcija između ovih puteva i služe li indolni glukozinolati kao potencijalni izvor auksina u stresnim uvjetima izvršeno je detaljno profiliranje auksinskog metaboloma te analiza transkriptoma u obje kupusnjače. Promjene u razini auksinskih prekursora, uključujući akumulaciju IAN, odrazile su se razinu aktivne slobodne IAA i procese konjugacije IAA u obje vrste sa svrhom postizanja auksinske homeostaze u stresnim uvjetima. Navedeni mehanizmi, praćeni promjenama u razini ekspresije odgovarajućih gena, precizno su regulirani u tolerantnijoj vrsti *B. oleracea*, posebno pri najduljem salinitetu, što upućuje na važnu ulogu auksina u toleranciji na solni stres i ujedno potencijalni doprinos indolnih glukozinolata opaženom odgovoru.

❖ **Sanja Grubišić, mag. ing. agr.**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek

Bioraspoloživost makroelemenata i mikroelemenata iz soka pšenične trave (*Triticum aestivum* L.)

Grubišić, Sanja, Rebekić, Andrijana

Mladi izdanci pšenice (*Triticum aestivum* L.) koji se zbog svoje nutritivne vrijednosti koriste kao prirodni dodatak prehrani u obliku svježeg soka, praha ili

tableta nazivaju se pšenična trava. Zbog visokog sadržaja klorofila, bogatog mineralnog sastava (K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mo, B) te sadržaja raznih vitamina (A, C, E i B – kompleks) pšenična trava se u brojnim istraživanjima pokazala kao izvrstan dodatak terapiji pacijenata oboljelih od raznih bolesti. Bioraspoloživost predstavlja količinu hranjive tvari koja je dostupna za apsorpciju u organizmu, te se može ispitivati *in vitro* i *in vivo* modelima simulacije probave. Cilj istraživanja je ispitati ukupne i bioraspoložive koncentracije elemenata u soku pšenične trave uzgojene iz konvencionalog i biofortificiranog zrna pšenice. Također, ispitati će se utjecaj starosti klijanaca pšenične trave na ukupne i bioraspoložive koncentracije elemenata. Preliminarnim istraživanjem na uzorku od 100 genotipova i 5 divljih srodnika pšenice utvrdile su se ukupne i bioraspoložive koncentracije makroemenata i mikroelemenata u soku pšenične trave. Na temelju tih rezultata izabrano je 9 genotipova i jedan divlji srodnik koji su posijani u poljski pokus. Tijekom rasta i razvoja pšenice (u fazi cvatnje i mliječne zriobe) provedena je folijarna aplikacija Zn i Se u tri različita tretmana. Iz biofortificiranog zrna pšenična trava će se uzgajati 6, 8 i 10 dana. U ovom dijelu istraživanja, bioraspoloživost će se ispitati putem dvije metode simulacije probave *in vitro*, metodom po Kiersu i sur. (2001.) i metodom po Minekusu i sur. (2014.). Ovo istraživanje značajno će pridonijeti boljem poznavanju nutritivne vrijednosti pšenične trave. Dobiveni podaci poslužit će za preporuku genotipa pšenice za uzgoj pšenične trave kao prirodnog dodatka prehrani.

❖ **Jelena Ravlić, mag. biol.**

Agrigenetics d.o.o. Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek

Oplemenjivanje pšenice

Oplemenjivanje bilja znanstvena je disciplina čiji cilj je uzgoj poljoprivrednog bilja takvih odlika koje će udovoljiti potrebama napredne poljoprivredne prakse i željama potrošača. Proces oplemenjivanja vrlo je složen, ovisi o nasljednim osobinama pojedinih biljnih vrsta i abiotskim i biotskim faktorima. Pšenica (*Triticum aestivum* L.) se koristi u ljudskoj prehrani oko 10000 godina i jedna je od najznačajnijih poljoprivrednih kultura. Stvaranje visokorodnih i kvalitetnih krušnih sorti ozime pšenice osnovni je cilj tvrtke Agrigenetics. Posebna pažnja pridaje se i otpornosti na različite abiotske i biotske stresove. Osnovna metoda oplemenjivanja je hibridizacija (križanje) uz selekciju nakon hibridizacije, a tehničko izvođenje hibridizacije sastoji se od ručne emaskulacije i oprašivanja. Nakon križanja, kontinuiranom selekcijom stvaraju se fenotipski ujednačene linije. Rodnost određenog genotipa utvrđuje se u preliminarnim i sortnim pokusima tijekom nekoliko godina, a analiza kvalitete uključuje masu 1000 zrna, hektolitarsku masu, sadržaj proteina i lijepka, sedimentacijsku vrijednost brašna, gluten indeks, farinografske i ekstenzografske analize. Stvaranje jedne sorte dugotrajan je proces koji traje deset do dvanaest godina.