

Seminar Hrvatskog društva za biljnu biologiju

12.12.2014. u 12.00 h, u predavaonici 1. krila Instituta Ruđer Bošković

12.00 Pozdravna riječ

12.15 prof.dr.sc. Jasna Puizina:

Triploidna ljutika, *Allium cornutum* (Clementi ex Visiani, 1842) -
rezultati molekularno-filogenetskih i citogenetskih analiza

13.00 dr.sc. Anita Mihovilović Bošnjak:

Razvoj metoda mikrorazmnožavanja i procjena genetičke
stabilnosti triju vrsta perunika (*Iris spp.*) razmnoženih *in vitro*

13.45 doc.dr.sc. Miroslav Lisjak:

H₂S kao signalna molekula u biljkama

14.30 dr.sc. Snježana Jurić:

Šećeri kao most između fotosinteze i cvjetanja

15.15 Diskusija, zakuska i druženje u Društvenom domu
na Institutu



**Veselimo se Vašem dolasku,
Predsjedništvo HDBB-a**

Prof. dr. sc. Jasna Puizina
Odjel za Biologiju
Prirodoslovno-matematički fakultet
Sveučilišta u Splitu

Triploidna ljutika, *Allium × cornutum* (Clementi ex Visiani, 1842) - rezultati molekularno-filogenetskih i citogenetskih analiza

Poliploidija i hibridizacija važan su mehanizam evolucije u biljaka. Poliploidi često imaju komercijalno superiornija obilježja u odnosu na diploidne pretke, te mogu biti korisni u poljoprivredi. Dosadašnje genetičke analize tradicionalno kultiviranog luka ljutike, *Allium x cornutum* Clementi ex Visiani, 1842, ukazala su na triploidni kariotip ($2n=3x=24$) i moguće podrijetlo dvostrukom hibridizacijom. Molekularno-filogenetskim analizama dvaju jezgrinih molekularnih biljega (ITS1 i ITS2 regije iz 35S rDNA i NTS regije iz 5S rDNA) rekonstruirano je podrijetlo tog luka. Postignuti rezultati ukazuju da je genom *A. x cornutum* nastao kao rezultat hibridizacije između triju srodnih vrsta roda *Allium*, što predstavlja iznimno rijedak oblik specijacije u prirodi. Istraživani ribosomski geni dodatno su mapirani na odgovarajućim kromosomima biljezima u roditeljskih vrsta i njihovog križanca, primjenom fluorescentne hibridizacije *in situ*. Tri različita genoma simultano su vizualizirana u mitotskim i mejotskim stanicama križanca primjenom tehnike genomske hibridizacije *in situ*. U predavanju će biti govora i o nekim budućim pravcima istraživanja tog neobičnog križanca i poliploida.

Dr.sc. Anita Mihovilović Bošnjak
Zavod za oplemenjivanje bilja, genetiku i biometriku
Agronomski fakultet
Sveučilište u Zagrebu

**Razvoj metoda mikrorazmnožavanja i procjena genetičke stabilnosti triju vrsta perunika (*Iris spp.*)
razmnoženih *in vitro***

Rod *Iris* ima preko 300 vrsta, i usprkos velikom hortikulturnom potencijalu *Iridaceae* germplazme, do sada je mikropropagirano samo 40-ak vrsta iz 12 rodova ove porodice. Razlog tome dijelom može biti u slabijoj regenerativnoj sposobnosti jednosupnica u usporedbi s dvosupnicama. Bez obzira na teškoće, kultura tkiva perunika razvija se već 40 godina ponajviše zbog velike potražnje tržišta za biljkama perunika slobodnim od virusa. Od velikog broja različitih perunika, mnoge su endemi, rijetke i/ili zaštićene i većina ih još nije u proizvodnji. U toj grupi su i hrvatske endemične perunike *Iris adriatica* Trinajstić ex Mitić, *Iris illyrica* Tomm. te *Iris x rotschildii* Degen. Sve tri vrste imaju izuzetno atraktivan cvijet, ali se razmnožavaju vegetativno, rizomima, a stopa umnažanja je niska što je velik nedostatak za komercijalnu hortikulturnu primjenu. Iako perunike kao jednosupnice teže regeneriraju u kulturi tkiva i s tog je aspekta izazov postaviti uspješan protokol za regeneraciju do sada su različite vrste razmnožavane *in vitro* somatskom embriogenezom i/ili organogenezom. Ciljevi ovog rada bili su razviti metodu *in vitro* regeneracije, za spomenute vrste perunika; utvrditi klonsku vjernost, odnosno eventualnu pojavu polimorfizma *in vitro* regeneriranih biljaka na fenotipskoj, citogenetičkoj i molekularnoj razini te utvrditi odražava li se polimorfizam na molekularnoj razini na fenotip.

H₂S kao signalna molekula u biljkama

Izlaganje biljnih stanica visokim koncentracijama sumporovodika (H₂S) može inhibitorno djelovati na funkciju enzima citokrom oksidaze. Bazirano na tom ali i ostalim sličnim inhibitornim efektima ovaj spoj se tradicionalno smatrao fitotoksinom. Međutim, promjenom pristupa u znanstvenim istraživanjima, dokazano je da niže koncentracije H₂S puno pozitivnije djeluju na stanične fiziološke puteve. Osim što su biljke neprestano izložene djelovanju H₂S porijeklom iz atmosfere i tla, otkriveno je da postoje enzimi koji uslijed obavljanja svoje metaboličke funkcije mogu generirati H₂S, cistein desulfhidraze, kao i enzimi koji ga mogu ukloniti, O-acetilserin liaze. Stoga se smatra da, kao i u animalnim tkivima, i kod biljaka H₂S ima značajnu endogenu ulogu signalne molekule kao što to imaju i mali reaktivni spojevi poput H₂O₂ i NO. Dosadašnjim istraživanjima je potvrđen njegov regulatorni utjecaj na formiranje bočnog korijenja kod biljaka, mehanizme otvaranja i zatvaranja puči te toleranciju na različite vrste biotskog i abiotskog stresa. Na staničnoj molekularnoj razini H₂S utječe na druge signalne komponente poput ROS i NOS s kojima je u međusobnoj interakciji, zatim na metabolizam cisteina i glutationa ali i na tiolne skupine proteina na strogo specifičan način, u kemijskim reakcijama nazvanima S-sulfhidracija. Krucijalni alati u istraživanjima signalne uloge ovog spoja su donori H₂S različitih kemijskih svojstava, poput stanične permeabilnosti, specifičnosti za određene organele, različite brzine otpuštanja, paralelno s *in vivo* metodama detekcije korištenjem visoko selektivnih fluorescentnih proba u sprezi s CLSM detekcijom *in situ*.

Mali broj fizioloških funkcija ovog spoja u biljnim stanicama je opisan na molekularnoj razini. Stoga su potrebna daljnja istraživanja u rasvjetljavanju njegove detaljne uloge i metaboličkih puteva u staničnim procesima. Pošto su dosad dokazane neke bitne regulatorne uloge ovog spoja u uvjetima stresa, rezultati takvih istraživanja mogu se osim u znanstvene svrhe primijeniti i u praksi, naročito kada je riječ o biljnoj proizvodnji uslijed stresnih uvjeta okoline.

Šećeri kao most između fotosinteze i cvjetanja

Faza klijanca je jedna od najaktivnijih faza u životnom ciklusu biljke, prilikom koje se troše uskladištene zalihe u kotiledonima dok je biljka još pod zemljom, te se naglo prelazi na autotrofni način života jednom kad je biljka izložena svjetlosnim uvjetima. Pritom etioplasti prelaze u kloroplaste i započinje fotosinteza. Biljke koje su rasle na hranjivoj podlozi s dodatkom šećera u prosjeku prelaze iz vegetativne u reproduktivnu fazu u jedanaestom danu, što se vidi po ekspresiji gena *Flowering locus T* (florigen, FT) i *Apetala 1* (AP1). Produkt gena *FT* putuje iz stanica pratilica floema u listovima u apikalni meristem, gdje stupa u interakciju s transkripcijskim faktorom FD i potiče transkripciju gena *AP1*. Prijelaz se nešto kasnije događa kod biljaka koje rastu na 16 stupnjeva Celzijusa. Smatra se da bi cvjetanje, kao energetski zahtjevan proces, trebalo biti povezano s procesom fotosinteze, možda upravo preko retrogradnih signala iz kloroplasta prema jezgrama. Također, kloroplasti bi mogli osjetiti prisutnost šećera u citoplazmi i uskladiti ekspresiju svojih gena s ekspresijom gena u jezgri (Häusler et al., 2014). Mutantna linija *thylakoid formation 1-1* (*thf1-1*), koja ne proizvodi protein THF1 (Wang et al., 2004), ima utišanu ekspresiju gotovo svih fotosintetskih gena, izrazito smanjenu proizvodnju fotosintetskih proteina i njihovih superkompleksa i cvjeta ranije pri određenim uvjetima. Pri uzgoju na hranjivoj podlozi s dodatkom različitih šećera, velika podjedinica proteina Rubisco (RbcL) se ne nakuplja isključivo u prisutnosti saharoze i glukoze. THF1 je nedavno prepoznat kao partner proteinu GPA1 u novom signalnom putu ovisnom o šećeru (Huang et al., 2006), ali sam biokemijski mehanizam djelovanja te utjecaj mutacije *thf1-1* na globalne promjene u ekspresijskom profilu biljke još nisu objašnjeni. Ova mutanta i ostale linije koje pokazuju fenotip mozaika (*variegated*) jako su oruđe u sve popularnijim istraživanjima isprepletenosti različitih signalnih puteva u biljkama.

Häusler RE, Heinrichs L, Schmitz J, Flüge UI. How sugars might coordinate chloroplast and nuclear gene expression during acclimation to high light intensities. *Mol Plant*. 2014, 7:1121-37.

Wang Q, Sullivan RW, Kight A, Henry RL, Huang J, Jones AM, Korth KL. Deletion of the chloroplast-localized Thylakoid formation1 gene product in *Arabidopsis* leads to deficient thylakoid formation and variegated leaves. *Plant Physiol*. 2004, 136:3594-604.

Huang J, Taylor JP, Chen JG, Uhrig JF, Schnell DJ, Nakagawa T, Korth KL, Jones AM. The plastid protein THYLAKOID FORMATION1 and the plasma membrane G-protein GPA1 interact in a novel sugar-signaling mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 2006, 18:1226-38.