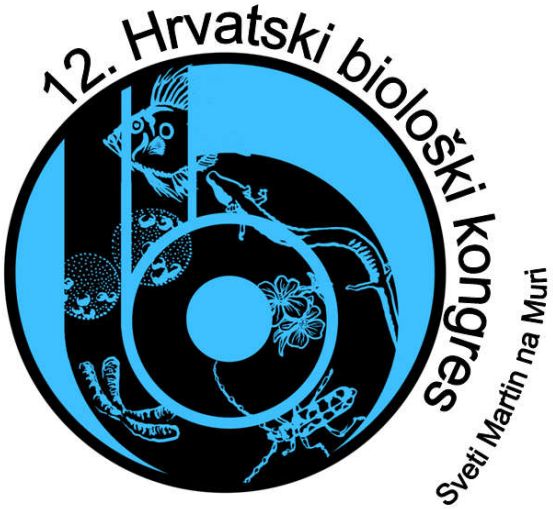
Hrvatsko biološko društvo
SOCIETAS BIOLOGORUM CROATICA
Croatian Biological Society

12. HRVATSKI BIOLOŠKI KONGRES
s međunarodnim sudjelovanjem

12th CROATIAN BIOLOGICAL CONGRESS
with International Participation

Sveti Martin na Muri, 18. – 23. IX 2015.



ZBORNIK SAŽETAKA

BOOK OF ABSTRACTS

Hrvatsko biološko društvo
SOCIETAS BIOLOGORUM CROATICA
Croatian Biological Society

12. HRVATSKI BIOLOŠKI KONGRES

s međunarodnim sudjelovanjem
18. – 23. rujna 2015.
Sveti Martin na Muri, Hrvatska

12th CROATIAN BIOLOGICAL CONGRESS

With International Participation
18th – 23rd September 2015
Sveti Martin na Muri, Croatia

ZBORNIK SAŽETAKA

BOOK OF ABSTRACTS

Zagreb, 2015.

ZBORNIK SAŽETAKA
12. HRVATSKOG BIOLOŠKOG KONGRESA

BOOK OF ABSTRACTS
OF THE 12th CROATIAN BIOLOGICAL CONGRESS

Urednici / Editors

Göran Klobučar
Nevenka Kopjar
Marija Gligora Udovič
Žaklin Lukša
Dušan Jelić

Odgovorni tehnički urednici / Technical Editors in Chief

Göran Klobučar
Nevenka Kopjar

Hrvatsko biološko društvo
Croatian Biological Society

Zagreb, 2015.

ISSN 1848-5553

Ključni naslov: Zbornik sažetaka (Hrvatski biološki kongres s međunarodnim sudjelovanjem)
Skraćeni ključni naslov: Zb. sažet. (Hrvat. biol. kongr. međunar. sudjel.)

Organizator kongresa i izdavač zbornika / Organiser of the Congress and Publisher of the Book of Abstracts

Hrvatsko biološko društvo
Croatian Biological Society
Rooseveltov trg 6, HR-10000 Zagreb, Hrvatska
Tel: +385 (0)1 4877733; Fax: +385 (0)1 4826260
e-mail: info@hbd-sbc.hr
URL: www.hbd-sbc.hr

Organizacijski i programski odbor / Organising and Program Committee:

Göran Klobučar (Predsjednik / President), Višnja Besendorfer (Dopredsjednica / Vicepresident), Marija Gligora Udovič (Tajnica / Secretary), Anamaria Štambuk (Blagajnica / Treasurer), Biljana Balen, Nataša Bauer, Sunčica Bosak, Domagoj Đikić, Mirna Ćurković Perica, Damjan Franjević, Bojan Hamer, Nenad Jasprica, Petra Korać, Petar Kružić, Mladen Kučinić, Bojan Lazar, Žaklin Lukša, Nenad Malenica, Marko Miliša, Božena Mitić, Anđelka Plenković-Moraj, Ana Previšić, Sandra Radić Brkanac, Dijana Škorić

Znanstveni odbor / Scientific Committee:

Nevenka Kopjar (Predsjednica / President), Dunja Leljak-Levanić (Dopredsjednica / Vice President), Andreja Ambriović-Ristov, Renato Batel, Vesna Benković, Branimir K. Hackenberger, Krunoslav Brčić-Kostić, Vera Cesar, Marko Ćaleta, Helena Ćetković, Zdravko Dolenec, Jakov Dulčić, Jerka Dumić, Hrvoje Fulgosi, Sanja Gottstein, Bojan Hamer, Dubravka Hranilović, Jasna Hrenović, Stipan Jonjić, Mladen Kerovec, Marcelo Kovačić, Valter Kožul, Stjepan Krčmar, Marijana Krsnik-Rasol, Gordana Lacković-Venturin, Gordan Lauc, Bojan Lazar, Zlatko Liber, Žaklin Lukša, Zrinka Ljubešić, Renata Matoničkin Kepčija, Melita Mihaljević, Milorad Mrakovčić, Toni Nikolić, Nadica Oršolić, Mirjana Pavlica, Miroslav Plohl, Martina Podnar Lešić, Jasna Puizina, Ines Radanović, Mary Sopta, Zdenko Tkalčec, Zoran Tadić, Nikola Tvrtković, Đurđica Ugarković, Željka Vidaković-Cifrek, Damir Viličić, Kristian Vlahoviček, Nedo Vrgoč, Davor Zahradka, Irina Zupan

Tehnička potpora / Technical support:

Ivana Bošnjak, Romana Gračan, Renata Horvat, Marija Ivković, Mišel Jelić, Maja Mejdandžić, Dorotea Polović, Maja Šrut, Vedran Vuković, Petar Žutinić

Tehnički organizator kongresa / Technical support for registration, accommodation and excursions:

PBZ Card d.o.o., putnička agencija / Travel agency; Radnička cesta 44, 10000 Zagreb, Croatia

Pokrovitelji / Patrons:

Ministarstvo znanosti, obrazovanja i sporta Republike Hrvatske / The Ministry of Science, Education and Sport of Republic of Croatia

Hrvatska Akademija znanosti i umjetnosti / Croatian Academy of Sciences and Arts

Agencija za odgoj i obrazovanje / Education and Teacher Training Agency

Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu / Faculty of Science, University of Zagreb

Biološki odsjek Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu / Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb

Međimurska županija / Međimurje county

Sponzori / Sponsors:

ALFA d.d. - Zagreb
Bioinstitut d.o.o. - Čakovec
Biosistemi d.o.o. - Zagreb
Biovit d.o.o. - Zagreb
Gorea Plus d.o.o. - Sveta Nedjelja
Hrvatske vode
INEL - medicinska tehnika d.o.o. - Zagreb
Kefo d.o.o. - Zagreb
Merck d.o.o. - Zagreb
Nastavni zavod za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar - Zagreb
RU-VE d.o.o. - Zagreb
Školska knjiga d.d. - Zagreb
Založba Hart - Ljubljana Slovenija

O-89

PROTEIN TaMAB2 SUDJELUJE U REMODELIRANJU KROMATINA I METABOLIZMU RNA U ZIGOTI I 2-STANIČNOM PROEMBRIJU PŠENICE

N. Bauer[1], M. Juranić[1], M. Močibob[1], G. Razdorov[2], D. Leljak-Levanić[1]
[1]Prirodoslovno matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska (natasa.bauer@biol.pmf.hr)
[2]Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Proteinska porodica MATH-BTB zajednička je i za životinje i biljke. Zanimljiva je činjenica da genomi uročnjaka i čovjeka kodiraju samo nekoliko MATH-BTB proteina (šest, odnosno dva) dok se u nekim biljnim i životinjskim organizmima ova porodica proteina proširila na više desetaka članova. Između nekoliko desetaka MATH-BTB gena prisutnih u genomu pšenice identificirali smo dva (*TaMAB1-2*) eksprimirana isključivo u jajnoj stanici (*TaMAB1*) ili proembriju (*TaMAB2*). Gen *TaMAB2* kodira protein koji u interfaznoj stanici lokalizira s mikrotubulima, na asimetričan način u području jezgrine ovojnice i unutar interfazne jezgre, dok tijekom mitoze protein slijedi pozicije formiranja diobenog vretena i fragmoblasta. Štoviše, tijekom diobe zigote *TaMAB2* uvijek se naslijeđuje u bazalnu stanicu proembrija. Asimetrična lokalizacija i nasljeđivanje ukazuju na moguću uključenost proteina TaMAB2 pri uspostavi asimetrične stanične diobe i stanične specifikacije. Analizama interakcija proteina s proteinom TaMAB2 pokazali smo da uspostavlja izravnu interakciju s culinom 3 (podjedinica ligaze E3) što ukazuje na njegovo sudjelovanje u ubikvitinskom putu razgradnje proteina. Spektrometrijom mase identificirali smo veći broj proteina koji ukazuju na moguće uloge TaMAB2 pri modeliranju kromatina i regulaciji metabolizma RNA.

Ključne riječi: MATH-BTB, *Triticum aestivum*, stanična lokalizacija, asimetrična dioba, TAP tag

WHEAT MATH-BTB PROTEIN TaMAB2 PARTICIPATES IN CHROMATIN REMODELLING AND RNA METABOLISM IN ZYGOTE AND 2-CELLED PROEMBRYO

N. Bauer[1], M. Juranić[1], M. Močibob[1], G. Razdorov[2], D. Leljak-Levanić[1]
[1]Faculty of Science, University of Zagreb, Zagreb, Croatia (natasa.bauer@biol.pmf.hr)
[2]Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

The MATH-BTB protein family is common to both animals and plants. It is a phenomenon that *Arabidopsis* and human genomes encode only few members (six and two, respectively) of the MATH-BTB protein family but in some plant and animal organisms, the same protein family has expanded more than 10-fold. Among tens of MATH-BTB genes in wheat genome, we have identified two MATH-BTB genes expressed exclusively in egg cell (*TaMAB1*) or in two celled proembryo (*TaMAB2*). The zygotic induced gene *TaMAB2* encodes a protein that asymmetrically co-localises with microtubuli around the nuclear envelope and within an interphase nucleus, while during mitosis protein follows spindle and phragmoblast formation. Moreover, zygote deposited *TaMAB2* is always inherited to the large basal cell after first asymmetric zygotic division. The asymmetrically inheritance indicate that the protein might be involved not only into establishment of asymmetry but also into the cell specification in two-celled embryo. By interaction studies we showed that TaMAB2 directly interact with Cullin 3-based E3 ligases and

are involved in ubiquitin-dependent degradation pathway. By mass spectrometry we have identified a set of novel interacting proteins that indicate the possible roles of TaMAB2 in chromatin remodelling and RNA metabolism.

Key words: MATH-BTB, *Triticum aestivum*, intracellular localization, asymmetric division, TAP tag

O-90
OPORAVAK KLIJANACA JEČMA REHIDRACIJOM NAKON STRESA IZAZVANOG SUŠOM

J. Antunović Dunić[1], Lj. Mihaljević[1], D. Šimić[2], A. Lalić[2], J. Kovačević[2], V. Cesar[1]
[1]Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska (jantunovic@biologija.unios.hr)
[2]Poljoprivredni institut Osijek, Osijek, Hrvatska

Tolerancija na sušu jedna je od najčešće istraživanih značajki s obzirom na globalni problem nedostatka vode. U ovom radu cilj je bio istražiti oporavak dehidriranih i slabo vijabilnih klijanaca ječma nakon ponovnog zalijevanja. Ječam (*Hordeum vulgare* L., kultivar Bravo) je uzgajan deset dana u uzgojnoj komori (16 sati svjetla, ~65 µmol m^{-2} s^{-1}, 22±1 °C; 8 sati tame, 19 °C) i potom izložen suši prestankom zalijevanja. Nakon osam dana, kada je relativni sadržaj vode u listu (RWC) iznosio oko 20% klijanci su ponovno svakodnevno zalijevani kao i kontrolne biljke. Za potrebe svih analiza uzorkovani su prvi potpuno razvijeni listovi prije stresa (0. dan), 8. dan suše i svaka 24 sata tijekom perioda rehidracije koji je trajao četiri dana. Povećana vrijednost indeksa fotosintetske učinkovitosti (PIABS), parametra fluorescencije klorofila a, i imunodetekcija proteina Rubisco LSU pokazali su učinkovit fotosintetski aparat na kraju perioda rehidracije. Rastuće vrijednosti RWC-a, smanjenje razine lipidne peroksidacije te razgradnja nakupljenog prolina ukazali su na visoku tendenciju ka ponovnom uspostavljanju homeostaze, prethodno narušene sušom. Zaključili smo da su klijanci unatoč niskom RWC-u i smanjenoj fotosintezi tijekom snažne suše uspjeli na kraju rehidracijskog perioda u potpunosti oporaviti ukupnu fotosintetsku učinkovitost (PIABS). Dobiveni rezultati mogli bi biti korisni oplemenjivačima ječma tijekom selekcije kultivara u svrhu kreiranja genotipova tolerantnih na sušu.

Ključne riječi: *Hordeum vulgare*, suša, oporavak, relativni sadržaj vode u listu, fotosinteza

RECOVERY OF DROUGHT STRESSED BARLEY SEEDLINGS BY RE-WATERING

J. Antunović Dunić[1], Lj. Mihaljević[1], D. Šimić[2], A. Lalić[2], J. Kovačević[2], V. Cesar[1]
[1]Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Osijek, Croatia (jantunovic@biologija.unios.hr)
[2]Agricultural Institute Osijek, Osijek, Croatia

Drought tolerance is one of the most studied features considering the global problem of water deficit. Here we investigated recovery of dehydrated and poorly viable barley seedlings upon re-watering. Barley seedlings (*Hordeum vulgare* L. cv. Bravo) were cultivated in the growth chamber (16 h day, ~65 µmol m^{-2} s^{-1}, 22±1 °C; 8 h night, 19 °C) for ten days and then subjected to drought induced by withholding water. After 8 days, when leaf relative water content (RWC) was about 20% seedlings were watered daily with the same amount of water as controls. For all measurements, first fully developed leaves were sampled before stress (0^{th} day), 8^{th} day of drought and every 24 h during rehydration period of four days. Increased performance index (PIABS), the parameter of chlorophyll a fluorescence called index vitality, and immunodetection

of Rubisco LSU revealed efficient photosynthetic apparatus after re-watering period. Increasing of RWC, decreasing the lipid peroxidation level, and degradation of accumulated proline indicated high tendency for the establishment of homeostasis previously disrupted by drought. We can conclude that despite the low RWC and downregulated photosynthesis under severe drought, seedlings were able to recover their overall photosynthetic efficiency (PIABS) at the end of rehydration period. Obtained results might be helpful to barley breeders during selection of cultivars in order to create a new generation of genotypes better adapted to water deficit.

Key words: *Hordeum vulgare*, drought stress, recovery, leaf relative water content, photosynthesis

O-91

FOTOSINTETSKI ODGOVOR MLADIH I RAZVIJENIH LISTOVA SMOKVE NA VISOKI INTENZITET SVJETLOSTI

S. Mlinarić[1], V. Cesar[1], H. Lepeduš[2]

[1]Odjel za biologiju, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska (selma.mlinaric@biologija.unios.hr)
[2]Filozofski fakultet, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

Visoki intenzitet svjetlosti često uzrokuje fotoinhibiciju zbog ograničenog transporta elektrona i smanjenog kvantnog prinosa fotosinteze. Cilj je bio istražiti utjecaj visokog intenziteta svjetlosti na fotosintetsku učinkovitost mladih (YL) i razvijenih (ML) listova smokve (*Ficus carica* L.) izloženih povišenoj temperaturi. Oba tipa listova aklimatizirani su 12 h u mraku na sobnoj temperaturi te nakon toga izloženi temperaturi od 35±1 °C u kombinaciji s niskim (LI, ~50 µmol m^{-2} s^{-1}) ili visokim (HI, ~800 µmol m^{-2} s^{-1}) intenzitetom svjetlosti tijekom 4 h. Za određivanje fotosintetske učinkovitosti mjerena je fluorescencija klorofila a metodom saturacijskog pulsa. Visoka vrijednost maksimalnog kvantnog prinosa fotosustava II izmjerena na LI tretmanu ukazuje da su oba tipa listova potpuno funkcionalna. Tretman HI izazvao je kod ML značajan pad Fv/Fm, smanjenu stopu elektronskog transporta i nisku razinu nefotokemijskog gašenja fluorescencije klorofila a. Povećanje kvantnog prinosa ne-reguliranog rasipanja energije (Y(NO)) u kombinaciji s padom optimalnog kvantnog prinosa (Y(PSII)) i kvantnog prinosa rasipanja energije ovisnom o pH gradijentu (Y(NPQ)) ukazuju na smanjeni kapacitet zaštite ML. YL nisu pokazali razlike između mjerenih parametara nakon izlaganja LI i HI tretmanima što ukazuje na stabilnu fotosintetsku učinkovitost. Može se zaključiti da su nakon izlaganja HI tretmanu YL zadržali učinkovite mehanizme zaštite, dok je pojačana osjetljivost ML rezultirala fotoinhibicijom.

Ključne riječi: *Ficus carica* L., fotosinteza, svjetlosni stres, fluorescencija klorofila a

PHOTOSYNTHETIC RESPONSE OF YOUNG AND MATURE FIG LEAVES TO HIGH IRRADIATION

S. Mlinarić[1], V. Cesar[1], H. Lepeduš[2]
[1]Department of Biology, J. J. Strossmayer University of Osijek, Osijek, Croatia (selma.mlinaric@biologija.unios.hr)
[2]Faculty of Humanities and Social Sciences, J. J. Strossmayer University of Osijek, Osijek, Croatia

High irradiation often causes photoinhibition due to limited electron transport and reduced photosynthetic quantum conversion. We aimed to investigate influence of high irradiation on photosynthetic performance of young (YL) and mature (ML) fig leaves (*Ficus carica* L.) exposed

to elevated temperature. Detached YL and ML were acclimated at room temperature in darkness for 12 h and then exposed to 35±1 °C combined with low (LI, ~50 µmol m^{-2} s^{-1}) or high irradiation (HI, ~800 µmol m^{-2} s^{-1}) for 4 h. To evaluate primary photochemistry of photosystem II (PSII), modulated chlorophyll a fluorescence was measured. High maximum quantum yield of PSII photochemistry (Fv/Fm) indicated full functionality of both leaf types exposed to LI. Exposure of ML to HI induced significant reduction of Fv/Fm, followed with decreased electron transport rate (ETR) and non-photochemical quenching (NPQ). Increase in the quantum yield of non-regulated energy dissipation (Y(NO)), accompanied with decline in both, the effective quantum yield of photochemical energy conversion in PSII (Y(PSII)) and the quantum yield of pH-dependant energy dissipation (Y(NPQ)), suggested reduced capacity of photoprotective reactions. YL exposed to HI showed no significant difference in all measured parameters compared to LI, thus indicating stable photosynthetic performance. In conclusion, YL maintained efficient photoprotective mechanisms at HI, while increased susceptibility of ML to HI resulted with severe photoinhibition.

Key words: *Ficus carica* L., photosynthesis, light stress, chlorophyll a fluorescence

O-92

ODREĐIVANJE IZOFORMI PEROKSIDAZA SKUPINE III I LAKAZA TIJEKOM RAZVOJA STABLJIKE JEČMA (*Hordeum vulgare* L.)

L. Begović[1], D. Pavoković[2], S. Mlinarić[1], A. Lalić[3], V. Cesar[1]
[1]Odjel za biologiju, Sveučilište J. J. Strossmayer u Osijeku, Osijek, Hrvatska (lbegovic@biologija.unios.hr)
[2]Zavod za molekularnu biologiju, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska
[3]Poljoprivredni institut Osijek, Osijek, Hrvatska

Enzimi peroksidaze skupine III sudjeluju u brojnim fiziološkim procesima u biljkama. Zajedno s enzimima lakazama uključene su u oksidaciju monolignola kao završnog koraka u sintezi lignina. Lignin je prirodni polimer koji izgrađuje staničnu stijenku i daje čvrstoću stabljici. U ovom istraživanju cilj je bio utvrditi karakteristike pojedinih izoformi peroksidaza i lakaza u internodijima tijekom četiri razvojne faze stabljike ječma: elongacija, klasanje, cvatnja i nalijevanje zrna. Izolirane su ukupne peroksidaze (tPOD) i lakaze te peroksidaze kovalentno vezane za staničnu stijenku (cPOD). Izoenzimske forme razdvojene su izolelektričnim fokusiranjem na poliakrilamidnom gelu. Za utvrđivanje peroksidazne aktivnosti korišten je gvajakol, a za lakaze siringaldazin. Analiza je pokazala prisutnost 8 različitih izoformi tPOD s izoelektričnom točkom (pI) 8-10 i jedne izoforme s pI 2,5-5. Najveća aktivnost uočena je u prvom internodiju u svim razvojnim fazama. U staničnoj stijenci cPOD prisutne su u jednoj izoformi, s profilom aktivnosti sličnom kao tPOD. Lakaze su zastupljene s dvije izoforme (pI 8-10 i pI 2,5-5) bez razlike u jačini aktivnosti u pojedinom internodiju i razvojnoj fazi. Dobiveni rezultati ukazuju na prisutnost i karakteristike različitih izoformi peroksidaza i lakaza uključenih u razvojne procese u stabljici ječma. Buduća istraživanja imaju za cilj razjasniti ulogu pojedinih izoformi u procesu biosinteze lignina.

Ključne riječi: internodij, stanična stijenka, lignin, izoforme, bakar vezane oksidaze

DETERMINATION OF CLASS III PEROXIDASE AND LACCASE ISOFORMS DURING DEVELOPMENT OF BARLEY (*Hordeum vulgare* L.) STEM

L. Begović[1], D. Pavoković[2], S. Mlinarić[1], A. Lalić[3], V. Cesar[1]
[1]Department of Biology, J.J. Strossmayer University of Osijek, Osijek, Croatia (lbegovic@biologija.unios.hr)
[2]Department of Molecular Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Zagreb, Croatia
[3]Agricultural Institute Osijek, Osijek, Croatia

Class III peroxidases are involved in many physiological processes in plants. Together with laccases they are involved in oxidation of monolignols as the final step in the synthesis of lignin. Lignin is a natural polymer that builds the cell wall and provides mechanical strength to the stem. In the present study, objective was to determine the characteristics of individual isoforms of peroxidase and laccase in internodes of barley during the four developmental stages: elongation, heading, anthesis and grain filling. Total peroxidase (tPOD), laccase and peroxidase covalently bound to the cell wall (cPOD) were extracted and separated using isolelectric focusing on polyacrylamide gels. Guaiacol was used for detection of peroxidase activity and syringaldazine for laccase activity. The analysis showed the presence of eight different isoforms of tPOD with isoelectric point (pI) 8-10 and one isoform with pI 2.5-5. Highest activity was recorded in the first internode in all developmental stages. cPOD were present in a single isoform with activity profile similar to tPOD. Laccase were represented with two isoforms (pI 8-10 and pI 2.5-5) with no difference in activity in a particular internode and developmental stage. The results show the presence and characteristics of the various isoforms of peroxidase and laccase involved in development of barley stem. Future studies aim to clarify the role of these enzymes in the biosynthesis of lignin.

Key words: internode, cell wall, lignin, isoformes, multicopper oxidase

O-93

USPOREDBA GASTROINTESTINALNE STABILNOSTI HRVATSKIH DIVLJIH JESTIVIH BILJAKA: ANALIZA FENOLNIH SPOJEVA

I. Šola[1], D. Poljuha[2,3], J. Bilić[3], S. Dudaš[4], T. Bilušić[5], J. Markić[6], G. Rusak[1]
[1]Botanički zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska (ivana.sola@biol.pmf.hr)
[2]Institut za poljoprivredu i turizam Poreč, Poreč, Hrvatska
[3]Centar za istraživanje materijala Istarske županije METRIS, Istarska razvojna agencija, Pula, Hrvatska
[4]Veleučilište u Rijeci, Odsjek za agrikulturu Poreč, Poreč, Hrvatska
[5]Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split, Hrvatska
[6]Klinički bolnički centar Split, Split, Hrvatska

Kvalitativne i kvantitativne analize fenolnih spojeva hrvatskih divljih jestivih biljaka oštrolisne šparoge (*Asparagus acutifolius* L.), bodljikave veprine (*Ruscus aculeatus* L.) i običnog bljušta (*Tamus communis* L.) provedene su metodom tekućinske kromatografije visoke moći razlučivanja u sustavu obrnutih faza. Najveća količina fenolnih spojeva zabilježena je u bljuštu, a najmanja u veprini. Glikozidi flavonola najzastupljeniji su fenoli u bljuštu i šparogi, a fenolne kiseline u veprini. Vodeni ekstrakti podvrgnuti su dvofaznoj (želučana i duodenalna) *in vitro* digestiji s ljudskim enzimima s ciljem usporedbe gastrointestinalne stabilnosti glavnih fenolnih spojeva odabranih biljnih ekstrakata. Fenolne kiseline svih testiranih vodenih ekstrakata bile su potpuno probavljene već nakon *in vitro* želučane faze probave. Od flavonoida, nakon

duodenalne probave najbolje su bila očuvana dva glavna glikozida kempferola iz vodenog ekstrakta bljušta (50% svaki). U vodenom ekstraktu šparoge otprilike 20% kvercetin-3-O-rutinozida i isoramnetin-3-O-rutinozida je ostalo stabilno, dok u ekstraktu veprine nakon duodenalne faze flavonoidi nisu zabilježeni. S obzirom da bljušt sadrži najveću količinu fenolnih spojeva i najveći postotak njegovih fenola je očuvan nakon *in vitro* gastrointestinalne probave, zaključujemo da je za ljudsku prehranu među istraženim biljkama bljušt najbolji izvor prirodnih antioksidativnih tvari.

Ključne riječi: RP-HPLC, *in vitro* digestija, kempferol, kvercetin-3-O-rutinozid, izoramnetin-3-O-rutinozid

COMPARISON OF GASTROINTESTINAL STABILITY BETWEEN CROATIAN WILD EDIBLE PLANTS: CASE OF PHENOLICS

I. Šola[1], D. Poljuha[2,3], J. Bilić[3], S. Dudaš[4], T. Bilušić[5], J. Markić[6], G. Rusak[1]
[1]Division of Botany, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Zagreb, Croatia (ivana.sola@biol.pmf.hr)
[2]Institute of Agriculture and Tourism Poreč, Poreč, Croatia
[3]Materials Research Centre METRIS, Istrian Development Agency, Pula, Croatia
[4]Polytechnic of Rijeka, Agricultural Department Poreč, Poreč, Croatia
[5]Faculty of Chemistry and Technology, University of Split, Split, Croatia
[6]University Hospital Split, Split, Croatia

Qualitative and quantitative reversed-phase high performance liquid chromatography analyses of phenolics in water and ethanolic extracts of Croatian wild edible plants asparagus (*Asparagus acutifolius* L.), butcher's broom (*Ruscus aculeatus* L.) and black bryony (*Tamus communis* L.) were conducted. Black bryony contained the highest amount of phenolics, followed by wild asparagus and butcher`s broom. Flavonol glycosides were the most abundant phenolics in black bryony and wild asparagus, in butcher`s broom phenolic acids were prevalent. Water extracts were subjected to two-phase (gastric and duodenal) *in vitro* digestion with human enzymes in order to compare the gastrointestinal stability of major phenolics in the selected plants extracts. Phenolic acids in all the tested water extracts were totally digested already after *in vitro* gastric digestion phase. Among flavon oids, two main kaempferol-glycosides from black bryony extract were best preserved (50% of each) after duodenal digestion. In wild asparagus extract approximately 20% of quercetin-3-O-rutinoside and isorhamnetin-3-O-rutinoside remained stable, and in the butcher`s broom extract no flavonoids could be detected upon duodenal digestion. Accordingly, among the tested plants black bryony would be the best source of natural antioxidants both because it contains the highest amount of flavonol glycosides, and because the highest percentage of this plant phenolics was preserved after *in vitro* gastrointestinal digestion.

Key words: RP-HPLC, *in vitro* digestion, kaempferol, quercetin-3-O-rutinoside, isorhamnetin-3-O-rutinoside

O-94
ASR SLIČNI PROTEINI OTKRIVENI U *IN VITRO* KULTURI KAKTUSA *Mammillaria gracilis*

P. Peharec Štefanić[1], K. Perica[2], K. Landeka[1], D. Bar-Zvi[3], B. Balen[1]

[1]Zavod za molekularnu biologiju, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska (ppeharec@zg.biol.pmf.hr)
[2]Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Hrvatska
[3]Zavod za prirodne znanosti i Doris i Bertie Black centar za bioenergetiku u prirodnim znanostima, Sveučilište Ben-Gurion, Beer-Sheva, Izrael

Apscizinskom kiselinom, stresom i dozrijevanjem inducirani (ASR) proteini su specifični za biljke, male su molekulske mase, otporni na toplinu te jako hidrofilni. ASR su po svojoj ulozi transkripcijski faktori ali i šaperonu slični proteini. Uključeni su u otpornost biljke na sušu i salinitet, regulaciju šećera, razgranatih amino kiselina i u metabolizam stanične stijenke. Porodica ASR proteina je jako rasprostranjena u biljnom carstvu. Međutim, uročnjak kao i druge vrste iz porodice krstašica nemaju ASR gene, što navodi na to da ASR nije prisutan u svim biljkama. Do sada nije poznato da li porodica kaktusa, koja je poznata po svojoj visokoj otpornosti na vodni stres, kodira ASR protein. Stoga smo istražili tkiva (biljka, kalus, tumor) vrste *M.gracilis*, koja su rasla u kulturi *in vitro*, kako bi otkrili da li se ASR slični proteini nalaze u vrstama porodice kaktusa. ASR se može učinkovito pročistiti pomoću Ni-NTA agaroze, jer ima autentičnu pentahistidinsku sekvencu blizu N-kraja. Stoga, kako bi pročistili ASR slične proteine iz tkiva kaktusa, koristili smo afinitetnu kromatografiju. Eluirani proteini s Ni-agaroze su analizirani u denaturirajućim i nativnim uvjetima, prijenosom proteina na membranu i detekcijom specifičnim protutijelom i spektrometrijom masa. Ove analize pokazale su, po prvi puta, da kaktusi kodiraju ABA i dozrijevanjem inducirane proteine. Nadalje, otkrili smo i neke moguće interakcijske partnere s ASR sličnim proteinima kaktusa koje ćemo dalje analizirati.

Ključne riječi: ASR proteini, kaktus, kultura biljnog tkiva, spektrometrija masa

ASR-LIKE PROTEINS DETECTED IN *IN VITRO*-GROWN CACTUS *Mammillaria gracilis*

P. Peharec Štefanić[1], K. Perica[2], K. Landeka[1], D. Bar-Zvi[3], B. Balen[1]
[1]Division of Molecular Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Zagreb, Croatia (ppeharec@zg.biol.pmf.hr)
[2]Ruđer Bošković Institute, Zagreb, Croatia
[3]Department of Life Sciences and The Doris and Bertie Black Center for Bioenergetics in Life Sciences, Ben-Gurion University of the Negev, Beer-Sheva, Israel

Abscisic acid-, Stress-, and Ripening-induced (ASR) proteins are plant specific, low molecular weight, heat-stable proteins that have high hydrophilicity. ASR proteins were shown to possess transcription factor and chaperon-like activities. They are involved in plant tolerance to drought and salinity, in regulation of sugar, branched amino acids and cell wall metabolism. The ASR protein family is widespread in the plant kingdom. However, the *Arabidopsis* as well as other Brassicaceae family species lack ASR genes, suggesting that ASR proteins are not ubiquitous to all plants. There is no knowledge if plants from the Cactaceae family, known for its highly tolerance to water stress, encode ASR proteins. We thus used *in vitro*-grown *M. gracilis* tissues (plant, callus and tumor) in order to reveal if the ASR-like proteins can be found in a member of the Cactaceae family. A SR proteins can be effectively purified to homogeneity on Ni-NTA-agarose, since they contain an authentic pentahistidine sequence close to their N-termini. We thus applied ion chelating chromatography to purify ASR-like protein from cactus tissues. Eluted proteins from Ni-agarose were analyzed by means of SDS-PAGE, Native-PAGE, western blot with anti-ASR1 antibody and mass spectrometry. These analyses demonstrated, for the first time, that cacti encode ABA- and ripening-induced proteins. Moreover, we revealed some possible interacting partners with cactus ASR-like proteins which need to be further analyzed.

Key words: ASR proteins, cactus, plant tissue culture, mass spectrometry