

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2010-1/154

## ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

### A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

#### 1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

<b>Šifra projekta</b>	J4-9476
<b>Naslov projekta</b>	Vrednotenje genotipov fižola ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) s pomočjo kandidatnih genov za odpornost proti suši
<b>Vodja projekta</b>	5667 Vladimir Meglič
<b>Tip projekta</b>	J Temeljni projekt
<b>Obseg raziskovalnih ur</b>	4.725
<b>Cenovni razred</b>	C
<b>Trajanje projekta</b>	01.2007 - 12.2009
<b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>	401 Kmetijski inštitut Slovenije
<b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b>	106 Institut "Jožef Stefan"
<b>Družbeno-ekonomski cilj</b>	13. Splošni napredek znanja - RiR financiran iz drugih virov (ne iz splošnih univerzitetnih fondov - SUF)

#### 2. Sofinancerji<sup>1</sup>

1.	Naziv	
	Naslov	
2.	Naziv	
	Naslov	
3.	Naziv	
	Naslov	

### B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

#### 3. Poročilo o realizaciji programa raziskovalnega projekta<sup>2</sup>

Cilj predlaganega projekta je bil preučevanje odziva navadnega fižola (*Phaseolus vulgaris* L.) na sušo. Osredotočili smo se na identifikacijo genov, povezanih z odpornostjo na sušo, na vpliv tega abiotskega stresa na aktivnost proteolitičnih encimov, na pripravo populacije fižola za kartiranje z izborom starševskih linij med slovenskimi genotipi navadnega fižola, ki se nahajajo v genski banki pri Kmetijskem inštitutu Slovenije, ki predstavlja ključni korak v izdelavi vezane karte (linkage map). Genotipe, ki

so prilagojeni slovenskemu eko-geografskemu prostoru, smo izbirali na osnovi različnega odziva na sušni stres in razlik v ostalih kmetijsko pomembnih lastnostih z uporabo morfometričnega, biokemičnega in molekularnega pristopa.

Navadni fižol smo izbrali, ker je v svetovnem merilu najpomembnejša stročnica. Fižol človeku zagotavlja pomemben vir proteinov (22%), vitaminov in mineralov (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn). Letna pridelava stročjega fižola in fižola v zrnju presega 24 milijonov ton, kar presega polovico svetovne pridelave stročnic, namenjene človekovi prehrani (FAOSTAT). Stročnice po vsebnosti proteinov presegajo ostale rastline in zasedajo osrednje mesto v kmetijski pridelavi ter človekovi prehrani. Visoka vsebnost proteinov, vključno z esencialnimi aminokislinami, v evropskem prostoru predstavlja velik potencial kot nadomestek mesu. Fižol je tudi sicer zdrava hrana, predvsem zaradi nizke vsebnosti maščob ter odsotnost nasičenih maščobnih kislin ter holesterola, kakor tudi zaradi znatne vsebnosti antioksidantov, ki zmanjšujejo tveganje obolenja za boleznimi srca in ožilja ter določenih vrst raka in drugih kroničnih bolezni. Zadnje raziskave so pokazale tudi njegov pozitiven učinek na ljudi z oslABLJENIM imunskim sistemom. Navadni fižol je torej pomembna sestavina kvalitetne diete, kar nas zavezuje k njegovemu ohranjanju, kot tudi k zviševanju pridelka in izboljšanju kvalitete. Tu je pomembno poudariti, da je evropska kmetijska proizvodnja, vključno s slovensko, danes podvržena nestabilnim klimatskim razmeram s pogostimi pojavi suše in poplav. Različne vrste biotskega in abiotskega stresa postajajo s tem vedno večji problem tudi v pridelavi navadnega fižola ne glede na pridelovalni sistem.

Za preučevanje odziva navadnega fižola na sušo smo se odločili, ker je ta abiotski stres eden izmed glavnih dejavnikov, ki vplivajo na rast in razvoj rastlin. Tudi pri stročnicah pomembno prispeva k zmanjšanju pridelka. Ustvarjanje sort bodisi s klasičnimi žlahtniteljskimi pristopi bodisi z genetskim inženiringom, ki bi bili hkrati tudi kmetijsko-ekonomsko sprejemljivi, je torej neizogibno. Do kakršnih koli učinkov pa je nemogoče priti brez poprejšnjega vrednotenja in poznavanja mehanizmov dovzetnosti različnih sort in vrst iz rodu *Phaseolus* z različno genetsko zasnovo na sušni stres. Rastline so se skozi evolucijo na stresne razmere prilagodile z razvojem različnih fizioloških in biokemičnih sistemov. Vzorec ukoreninjenja, še posebej dolžina korenin, je npr. pomembni dejavnik, ki vpliva na dovzetnost na sušni stres. Sposobnost transporta ogljikovih hidratov v seme navkljub podvrženosti sušnemu stresu igra prav tako pomembno vlogo pri odpornosti fižola na sušo. Poznavanje dovzetnosti rastlin na stresne razmere predstavlja osnovo za razumevanje vpletenih fizioloških procesov in je zato ključno pri izboljševanju rastlinske pridelave.

Izsledki raziskav odpornosti skupine genotipov navadnega fižola, opravljenih v več državah v 80-ih letih prejšnjega stoletja nakazujejo na pomembno vlogo lokalne prilagojenosti genotipov navadnega fižola pri odpornosti na sušo. S prenosom na sušo odpornih genotipov iz naravnega okolja mehiškega visokogorja in kolumbijskih predelov v drugo okolje, se odpornost na sušo pri genotipih ni ohranila, ker je vir odpornosti na sušo pri starševskih genotipih v tesni povezavi z njihovo produkcijsko zmogljivostjo v danih okoljskih razmerah.

Zavedajoč se tovrstne problematike, smo na Kmetijskem inštitutu Slovenije kot primarni žlahtniteljski cilj izpostavili razvijanje sort odpornih tako na biotski kot abiotski stres in v ta okvir umestili tudi naš projekt. Njegovi rezultati, ki jih podajamo v poročilu, so pomemben doprinos razumevanju odziva fižola na sušo, ki bo v končni fazi omogočilo pridelavo novih sort z izboljšano odpornostjo proti različnim stresom oz. omogočilo znižanje tveganja izgube pridelka ter stabilno pridelavo fižola v različnih, včasih tudi neugodnih, okoljskih razmerah.

Pri raziskovanju molekularnih mehanizmov odpornosti na sušni stres smo uporabili različna orodja molekulske biologije in biokemije, naši rezultati pa bodo osnova za razvoj novih sort, odpornih na sušni stres, ki bo temeljil na molekularnem žlahtnjenju.

Rastline vsebujejo številne gene, ki igrajo ključno vlogo pri zagotavljanju zvišane tolerance na stres ter s tem nadaljevanje rasti in razvoja. Diferencialno izražanje genov je eden izmed ključnih mehanizmov odpornosti rastlin na sušo, saj se pod vplivom signalov v spremenjenem okolju spremeni tudi izražanje genov. Njihova aktivnost pa se izraža v količini mRNA, nastale v procesu transkripcije. Za identifikacijo genov povezanih z odzivom navadnega fižola na sušni stres smo v rastni komori in rastlinjaku pripravili

rastline štirih različno odpornih sort navadnega fižola (Tiber, Starozagorski čern, Zorin in Češnjevce) v treh različnih fazah suše in ustrezne kontrolne rastline. Liste smo shranili na  $-80^{\circ}\text{C}$  in jih uporabili za izolacijo RNA. Z metodo PCR diferencialnega prikaza z obratno transkripcijo in verižno reakcijo s polimerazo (DDRT-PCR) smo iz agaroznih gelov izolirali 64 PCR fragmentov in jim določili nukleotidno zaporedje. S primerjavo s sekvencami v bazah sekvenčnih podatkov: EST in nr protein v GenBank (NCBI), smo za številne od njih lahko določili potencialno funkcijo. Statistično značilno smo diferencialno izražanje izbranih transkriptov/genov potrdili z metodo kvantitativni PCR v realnem času za šestnajst transkriptov, pri čemer smo podatke ( $C_t$  vrednosti) statistično ovrednoteli z  $\Delta\Delta C_t$  metodo oz. s programom REST 2005. Glede na funkcijo identificirani geni pripadajo različnim skupinam, kar potrjuje, da gre pri odzivu rastlin na sušni stres za izrazito kompleksen proces.

Raziskavo izražanja genov, udeleženih v odziv na sušni stres, smo z navadnega fižola razširili na sorodne vrste: *Phaseolus coccineus*, *Phaseolus lunatus* in *Phaseolus acutifolius*. Navedene vrste so v svetu vključene v rastlinsko pridelavo, vendar v precej manjšem obsegu kot navadni fižol. Prilagojene so različnim pedo-klimatskim razmeram, zaradi česar predstavljajo pomemben vir za izboljšanje proizvodnega potenciala navadnega fižola v spremenjenih rastnih razmerah. Vrste iz rodu *Phaseolus* se razlikujejo tudi v stopnji tolerantnosti na sušo. Mehanizmi tolerantnosti so na fenotipski ravni do neke mere pojasnjeni, precej manj pa je znanega o molekularnih mehanizmih odpornosti na sušo. Zato smo raziskave usmerili v proučevanje genov, odgovornih za odziv rastlin fižola na sušni stres. V raziskavo so bile vključene tri vrste iz rodu *Phaseolus*, ki so bile podvržene različnim ravnom dehidracije v rastni komori in rastlinjaku. S pomočjo metode verižne reakcije s polimerazo v realnem času (rtPCR) smo pri obravnavanih rastlinah izmerili vsebnost transkriptov, za katere smo v predhodni študiji (Kavar in sod., 2008) pokazali, da se v odvisnosti od vodnega statusa rastlin navadnega fižola diferencialno izražajo. V sklopu proučevanja genskega izražanja pri treh sorodnih vrstah navadnega fižola smo z metodo rtPCR izmerili vsebnost 16 transkriptov, ki smo jih predhodno identificirali pri navadnem fižolu. V rtPCR nam je uspelo namnožiti 13 originalnih transkriptov ali njihovih homologov, pri dveh je bila namnožitev neuspešna, pri enem pa razlike med rastlinami v različnem stadiju dehidracije niso bili statistično značilne. Pri obravnavanih vrstah smo opazili enak vzorec izražanja pri vseh 13 uspešno namnoženih transkriptih. Rezultati nakazujejo, da analizirani transkripti pripadajo skupini genov, ki so odgovorni za splošen odziv vrst iz rodu *Phaseolus* na sušni stres in utegnejo pomembno prispevati k odkrivanju in pojasnjevanju molekularnih mehanizmov, odgovornih za specifičen odziv posamezne proučevane vrste iz rodu *Phaseolus* na sušni stres.

Ena izmed pomembnejših posledic sprememb v izražanju genov je lahko tudi spremenjena proteolitična aktivnost povezana z razgradnjo proteinov, ki predstavlja esencialen mehanizem v adaptaciji rastlin na okoljske razmere. V našem projektu smo zato raziskovali vpliv suše na aktivnost proteolitičnih encimov oz. proteaz. Le-te s svojim delovanjem lahko pozitivno vplivajo na vsebnost proteinov v razmerah, ki zahtevajo spremenjen metabolni status in na odstranitev poškodovanih proteinov, ali pa imajo negativne učinke zaradi nekontrolirane preteolize, ki se pojavi ob poškodbah delov celic, izpostavljenih sušnemu stresu. Regulacija razgradnje proteinov, v kateri proteolitičnim encimom pripada osrednje mesto, je zato eden od temeljnih mehanizmov v odzivu rastlin na pomanjkanje vode. Za rastlino ima negativne posledice tudi razgradnja proteinov povzročena s predčasnim staranjem rastlinskih tkiv v suši in posledično nenadzorovano proteolizo. Namen našega dela je bil identificirati nekatere od tistih proteaz, katerih aktivnost se v listih navadnega fižola spreminja pod vplivom sušnega stresa. Za poskuse smo uporabljali slovensko sorto Zorin, ki je zmerno občutljiva za sušo. Pokazali smo, da je v odziv navadnega fižola na sušni stres vpletenih več serinskih endo- in aminopeptidaz. Identificirali smo tri serinske endopeptidaze (BSP, SSP1 in SSP2) in pet serinskih aminopeptidaz (AP0, AP1, AP2, AP3 in FAP4). Pokazali smo, da je relativna zastopanost posameznih aktivnosti odvisna od starosti listov in da se spreminja pod vplivom sušnega stresa. Kompleksnost odziva fižola na sušo na ravni endo- in aminopeptidaznih aktivnosti smo potrdili s cimografijo, ki smo jo razvili za potrebe kvantitativnega določanja aktivnosti proteaz v rastlinskih vzorcih. Endopeptidaza BSP je

verjetno vpletena pri staranju fižolovih listov, kar potrjuje njena veliko višja aktivnost v prvih sestavljenih (starih) listih rastlin v primerjavi z drugimi in tretjimi (mladimi) sestavljenimi listi, vendar ni regulirana z rastlinskima hormonoma abscizinska in jasmonska kislina. V okviru ovrednotenja in karakterizacije genov, ki kodirajo proteaze vključene v odziv na sušo, smo iz navadnega fižola sorte Zorin delno očistili dve od omenjenih serinskih proteaz, BSP (endopeptidaza) in FAP4 (aminopeptidaza), katerih aktivnost se je v suši spreminjala. Za sočasno izolacijo teh dveh proteaz smo uporabili ionsko izmenjevalno kromatografijo, kjer smo uporabili anionski izmenjevalec Q Sepharose FF. BSP aktivno proti N-benzoil-DL-arginin-p-nitroanilidu smo očistili z afinitetno kromatografijo z uporabo benzamidinske kolone. FAP4, najbolj aktivno proti fenilalanin-p-nitroanilidu, pa smo očistili s hidrofobno kromatografijo, kjer smo uporabili kolono Phenyl Sepharose HP. Aminokislinsko zaporedje N-konca in masna spektrometrija sta pokazala, da lahko BSP, za katero smo ugotovili, da je njena molekulska masa ~60 kDa, izoelektrična točka pa ~4,8, uvrstimo v družino S8, kamor uvrščajo subtilizinu podobne serinske proteaze. Pomnožili smo tudi zaporedji cDNA za 2 podobni proteazi, ki smo ju poimenovali BSP1 in SLP2. Pomanjkanje vode v listih ne povzroči sprememb v izražanju genov, ki kodirata te dve proteazi, zato sklepamo, da je uravnava aktivnosti domnevnih subtilaz BSP1 in SLP2 posttranslacijska. Aktivnosti endopeptidaz SSP1 in SSP2, aktivnih na Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-p-Na in domnevno kimotripsinskega tipa, se za razliko od BSP, povečata le v listih, ki se zaradi sušnega stresa predčasno postarajo. Izolirali smo tudi aminopeptidazo FAP4, ki ima molekulska maso ~37 kDa in izoelektrično točko ~5,85. Njena aktivnost v prvih (starih) in drugih sestavljenih listih se med sušo zviša. Ravni njene aktivnosti se v posameznih listih iste rastline ne razlikujejo. FAP4 je edina izmed proučevanih aminopeptidaz, ki je aktivna tudi v starih listih. FAP4 iz fižolovih listov sodi med redke do sedaj opisane serinske aminopeptidaze in med redke rastlinske fenilalaninske aminopeptidaze. Z rezultati te raziskave smo nadgradili študije, ki so le nakazovale na vpletenost proteaz v odziv navadnega fižola na stres, ki ga povzroča suša. Potrdili smo, da odziv na sušni stres sproži spremembe v aktivnosti več amino- in endopeptidaz, kar je pomembna stopnja k njegovemu razumevanju. Obenem smo podali osnove za nadaljnje raziskave strukture identificiranih proteolitičnih encimov, genov ki jih kodirajo in njihove vloge v odzivu na sušo. Da bi bolje razumeli njihov vpliv, je namreč potrebno nadaljevati z našimi raziskavami ter tako podrobneje opredeliti njihovo delovanje v sušnih razmerah, s končnim ciljem pridobitve njihove celotne podobe na strukturni (na ravni genov) in funkcijski (mRNA, proteini) ravni.

S prepoznavanjem potenciala DNK markerjev v žlahtnjenju so številni kmetijski raziskovalni centri in ostale inštitucije, povezane z žlahtnjenjem rastlin, pričeli z njihovo aplikacijo v svojih raziskovalnih dejavnostih. DNK markerji so še posebej primerni za izdelovanje vezanih genetskih kart (linkage maps) pri različnih kmetijskih rastlinah, kar je tudi naš dolgoročni načrt v zvezi z navadnim fižolom in njegovo odpornostjo na abiotične strese. Genetske karte bomo uporabljali v identifikaciji kromosomskih regij, povezanih z geni, ki pogojujejo kvalitativne lastnosti (en gen) kot tudi kvantitativne lastnosti (več genov) z uporabo QTL (angl. quantitative trait loci) analize. DNK markerje, tesno povezane s kmetijsko pomembnimi lastnostmi, je kot molekularno orodje v žlahtnjenju mogoče uporabljati v selekciji s pomočjo markerjev (MAS, marker-assisted selection). MAS, ki temelji na prisotnosti oziroma odsotnosti markerja, lahko predstavlja ustrezno zamenjavo ali pa pomoč pri fenotipski selekciji ter tako izboljša njeno zmogljivost, učinkovitost, zanesljivost in ekonomičnost. Izdelava genetske karte sestoji iz treh faz: (1) oblikovanje populacije, za katero se karta izdeluje, (2) identifikacija polimorfizmov in (3) analiza povezanosti markerjev.

Identifikacija tovrstnih DNK markerjev predvideva izdelavo genetske karte, kar je tudi bil pomemben del našega projekta. Za izdelavo genetske karte smo med 22 genotipi (12 slovenskih lokalnih sort, 4 evropski in 6 ameriških sort) navadnega fižola, ki smo jih v rastlinjaku in na polju (razen ameriških) z različnimi metodami testirali na odpornost na sušni stres, izbrali 2 sorti: 'Starozagorski čern' in 'Tiber'. Obe sorti sta grmičaste rasti in sta namenjena pridelavi stročja. V preizkusu tolerantnosti na sušo smo na polju pri obeh sortah izmerili primerljiv 'indeks občutljivosti na sušo' (DSI, drought susceptibility index). V vzporednem poskusu v rastlinjaku pa smo pri kontroliranih pogojih pri Starozagorskem

(1,42) izmerili bistveno večjo vrednost DSI kot pri Tibru (1,03). Ta je bila pri Starozagorskem med vsemi testiranimi genotipi v kontrolnih razmerah celo najvišja. Na podlagi izsledkov prvega dela raziskav smo omenjeni sorti izbrali kot starševski liniji za pridobitev rekombinantnih inbridiranih linij (RIL). Do izteka projekta nam je uspelo razmnožiti F8 generacijo (vsako leto eno generacijo na polju in v rastlinjaku) več kot 80 RIL. Sposobnost ločevanja starševskih linij smo preizkusili za 46 mikrosatelitskih markerjev. Ugotovili smo, da je 22 markerjev, ki uspešno ločujejo starševski liniji, uporabnih za konstruiranje genetske karte. Tako smo ustvarili osnovo za QTL kartiranje, s katerim bomo na genetski karti identificirali markerje, ki označujejo lokuse, povezane z odpornostjo na sušni stres. Od identificiranih markerjev pričakujemo pomemben prispevek v žlahtniteljskem procesu, katerega glavni cilj je pridobivanje novih sort z izboljšano odpornostjo proti različnim stresnim dejavnikom, nižjim tveganjem izgube pridelka ter izboljšano stabilnostjo pridelave v različnih, pogosto tudi neugodnih, okoljskih razmerah.

#### 4. Ocena stopnje realizacije zastavljenih raziskovalnih ciljev<sup>3</sup>

Ocenjujemo, da smo zastavljene cilje projekta realizirali. Med njimi je pomembna priprava populacije za kartiranje, ter izbor starševskih linij med slovenskimi genotipi navadnega fižola. Na osnovi rezultatov poskusov ugotavljamo, da znotraj slovenske dednine navadnega fižola obstaja diferenciacija genotipov glede na toleranco na sušni stres. Rezultati karakterizacije mikrosatelitskih markerjev proučevanih sort in kultivarjev kažejo na relativno visoko stopnjo polimorfizma med proučevanimi genotipi. Rezultati kažejo na to, da razlike med sortami niso samo v različnem nivoju izražanja proteinov, ampak predvsem na strukturnem nivoju (npr. razlike v aminokislinskem zaporedju, v različni kombinaciji eksonov, v terciarni strukturi zaradi post-translacijskih modifikacij proteinov ipd.).

Pomembno je tudi, da smo opravili hibridizacijo izbranih sort (Starozagorski x Tiber) z diferencialnim odzivom na sušni stres. Potomci hibridizacije (generacija F1) so bili podvrženi samoopraševanju. Z metodo 'selekcije potomstva posamičnega semena' (angl. single-seed descent), kjer v naslednjo generacijo prenašamo le po eno posamezno zrno vsake rastline (linije), smo do zaključka projekta vzgojili rastline F8 generacije. Pri izbranih starših smo iz nabora 46 mikrosatelitskih markerjev proučili sposobnost ločevanja starševskih linij in ugotovili, da je 22 markerjev, ki uspešno ločujejo starševski liniji, uporabnih za konstruiranje genetske karte.

Uspeli smo identificirati več genov, povezanih z odpornostjo na sušo, kar je tudi bil eden od ciljev projekta. Najprej smo pri različnih sortah navadnega fižola diferencialno izražanje izbranih transkriptov/genov potrdili z metodo kvantitativni PCR v realnem času za šestnajst transkriptov. Pri trinajstih smo opazili enak vzorec izražanja pri vseh obravnavanih vrstah. Rezultati nakazujejo, da analizirani transkripti pripadajo skupini genov, ki so odgovorni za splošen odziv vrst iz rodu *Phaseolus* na sušni stres.

Za namen pravilne identifikacije izoliranih serinskih proteaz smo razvili metodo določanja s pomočjo cimografije, ki smo jo razvili za potrebe kvantitativnega določanja aktivnosti proteaz v rastlinskih vzorcih. Ta metoda nam je omogočila preučevanje vpletenosti proteaz v odziv na sušo, kar je tudi bil eden od ciljev projekta. Potrdili smo hipotezo, da suša sproži spremembe v aktivnosti več serinskih amino- in endopeptidaz in da je odziv kompleksen. Uspeli smo izolirati in okarakterizirati dve med njimi. Obenem smo podali osnove za nadaljnje raziskave vloge vseh identificiranih proteolitičnih encimov.

#### 5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta<sup>4</sup>

Ni sprememb.

#### 6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine<sup>5</sup>

Znanstveni rezultat

1.	Naslov	SLO	Kvantitativne tehnike za determinacijo proteaz in njihovih specifičnih substratov ter optimalnega pH v surovih ekstraktih encimov.
		ANG	A quantitative technique for determining proteases and their substrate specificity and pH optima in crude enzyme extracts.
	Opis	SLO	Cimografska tehnika, razvita na osnovi PAGE za aminopeptidaze in peptidaze iz surovih ekstraktov fižola, ki omogoča determinacijo v nefrakcioniranem rastlinskem ekstraktu glede na specifičnost substratov, vsebnost in pH profile proteolitskih encimov. Identificiran je bil en encim aktiven proti Ala-AMC (7-amino-4-methylcoumarin), en encim aktiven proti Z-Arg-AMC, več encimov aktivnih proti Leu-AMC, in (prvič pri rastlinah) več encimov aktivnih proti Phe-AMC.
		ANG	A zymography technique, applied to aminopeptidases and peptidases in crude bean leaf extracts, based on native polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) has been devised, which enables the substrate specificities, content and pH profiles of proteolytic enzymes to be determined in an unfractionated tissue extract. One enzyme active against Ala-AMC (7-amino-4-methylcoumarin), one enzyme active against Z-Arg-AMC, several enzymes active against Leu-AMC, and (for the first time in plants) several enzymes active against Phe-AMC were identified.
	Objavljeno v	BUDIČ, Maruška, KIDRIČ, Marjetka, MEGLIČ, Vladimir, CIGIČ, Blaž. A quantitative technique for determining proteases and their substrate specificity and pH optima in crude enzyme extracts. Anal. biochem., 2009, issue 1, vol. 388, str. 56-62, doi: 10.1016/J.ab.2009.01.045.	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
COBISS.SI-ID	3576952		
2.	Naslov	SLO	Identifikacija genov vključenih v odziv listov navadnega fižola na sušni stres.
		ANG	Identification of genes involved in the response of leaves of Phaseolus vulgaris to drought stress.
	Opis	SLO	Odziv na sušni stres v listih fižola smo proučevali tudi z metodo diferencialnega prikaza RT-PCR in z relativno analizo izražanja genov z metodo kvantitativnega PCR. Povečano izražanje pri rastlinah smo statistično značilno potrdili za devet transkriptov; medtem ko smo znižano izražanje statistično potrdili za sedem transkriptov. Rezultati raziskav predstavljajo osnovo za nadaljnji študij odziva rastlin na sušni stres.
		ANG	Changes in gene expression in leaves of common bean at different levels of dehydration were identified by differential display reverse transcriptase PCR and confirmed by quantitative real-time PCR. The levels of 16 transcripts were changed significantly in all cultivars under both growth conditions, 9 being increased and seven decreased. The results of the studies form a basis for further studies of mechanisms of drought resistance in plants.
	Objavljeno v	KAVAR, Tatjana, MARAS, Marko, KIDRIČ, Marjetka, ŠUŠTAR VOZLIČ, Jelka, MEGLIČ, Vladimir. Identification of genes involved in the response of leaves of Phaseolus vulgaris to drought stress. Mol. breed.. [Tiskana izd.], 2008, no. 2, vol. 21, str. 159-172.	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
COBISS.SI-ID	2463336		
3.	Naslov	SLO	Molekulska raznolikost v slovenskih populacijah navadnega fižola v času.
		ANG	Molecular diversity in Slovene common bean landraces related to temporal trends.
	Opis	SLO	Štirinajst mikrosatelitnih markerjev smo uporabili za opis genske raznolikosti 128 akcesij navadnega fižola z območja Slovenije ter sosednjih pokrajin med leti 1800 in 2000. Generirali smo 130 alelov. S pomočjo UPGMA dendrograma smo pokazali, da so vse akcesije pomešane v treh skupinah kar kaže na prekrivanje raznolikosti gleda na stroost akcesije. Analiza molekulske variance pa kaže na to, da je bila večina genske raznolikosti očuvana do današnjih dni.
		ANG	Fourteen microsatellite markers were used to describe genetic diversity in a sample of 128 common bean accessions cultivated within the territory of Slovenia and its nearby regions between 1800 and 2000. A total of 130 alleles were generated. In the UPGMA dendrogram, all studied accessions were intermixed in three main clusters, indicating that the diversity in the time periods overlapped. The analysis of molecular variance showed that a

		great part of genetic diversity has been preserved till today, confirming the results of cluster analysis.
	Objavljeno v	MARAS, Marko, ŠUŠTAR VOZLIČ, Jelka, MEGLIČ, Vladimir. Molecular diversity in Slovene common bean landraces related to temporal trends. V: PLAVAC, Ivana (ur.), ČUŽE, Maja (ur.). Konferencija o izvornim pasminama i sortama kao dijelu prirodne i kulturne baštine - pod pokroviteljstvom Vlade Republike Hrvatske - / book of abstracts / : Šibenik, November 13th - 16th, 2007. Zagreb: Državni zavod za zaštitu prirode, 2007, str. 170-171, ilustr. ]
	Tipologija	1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci
	COBISS.SI-ID	2550888
4.	Naslov	SLO Analiza učinkovitosti AFLP in SSR markerskih sistemov v proučevanju genetske raznolikosti in porekla navadnega fižola ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)
		ANG The efficiency of AFLP and SSR markers in genetic diversity estimation and gene pool classification of common bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)
	Opis	SLO V raziskavi smo na vzorcu 29 genotipov navadnega fižola različnega geografskega porekla (srednjeameriško, andsko) proučevali učinkovitost AFLP (polimorfizem dolžine pomnoženih restrikcijskih fragmentov) in SSR (enostavne ponavljajoče se sekvence) markerjev v vrednotenju genetske raznolikosti in klasifikaciji navadnega fižola glede na poreklo. Rezultati raziskave kažejo, da sta SSR in AFLP markerska sistema podobno uspešna pri vrednotenju genetske raznolikosti navadnega fižola in njegovi klasifikaciji glede na poreklo.
		ANG The present work was conducted to evaluate AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) and SSR (Simple Sequence Repeat) marker systems for their ability to detect genetic diversity within a set of 29 common bean accessions spanning both the Andean and Mesoamerican gene pools and to compare the efficiency of these two marker types in the classification of accessions according to the gene pools of origin.
	Objavljeno v	MARAS, Marko, ŠUŠTAR VOZLIČ, Jelka, JAVORNIK, Branka, MEGLIČ, Vladimir. The efficiency of AFLP and SSR markers in genetic diversity estimation and gene pool classification of common bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) = Analiza učinkovitosti AFLP in SSR markerskih sistemov v proučevanju genetske raznolikosti in porekla navadnega fižola ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.). Acta agric. Slov.. [Tiskana izd.], 2008, letn. 91, št. 1, str. 87-96. <a href="http://aas.bf.uni-lj.si/maj%202008/09maras.pdf">http://aas.bf.uni-lj.si/maj%202008/09maras.pdf</a> .
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID	5590905
5.	Naslov	SLO
		ANG
	Opis	SLO
		ANG
	Objavljeno v	
	Tipologija	
	COBISS.SI-ID	

## 7. Najpomembnejši družbeno-ekonomsko relevantni rezultati projektne skupine<sup>6</sup>

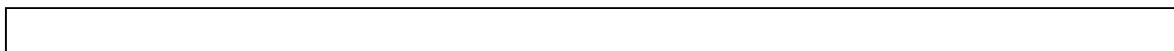
	Družbeno-ekonomsko relevantni rezultat	
1.	Naslov	SLO Serinske proteaze vključene v odziv na vodni stres pri navadnem fižolu.
		ANG Serine proteases involved in the response to water stress in common bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).
Opis	SLO Pri rastlinah obstaja široka paleta proteolitskih encimov. Objave kažejo, da cisteinske proteaze pogosto vplivajo na odziv na sušni stres, malo objav pa kaže na vpliv serinskih proteaz. Naši rezultati kažejo na številne vloge serinskih proteaz pri odzivu na sušni stres.	
	ANG A wide variety of proteolytic enzymes exist in plants. Cysteine proteases have frequently been reported to be influenced by drought, but only a few serine proteases. Our results point to a number of roles for different SPs in the plant response to water stress.	

	Šifra	F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj
	Objavljeno v	BUDIČ, Maruška, ŠOSTARIČ, Maja, CIGIČ, Blaž, MEGLIČ, Vladimir, KIDRIČ, Marjetka. Serine proteases involved in the response to water stress in common bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.). V: POKLAR ULRIH, Nataša (ur.), ABRAM, Veronika (ur.), CIGIČ, Blaž (ur.). 7. srečanje Slovenskega biokemijskega društva z mednarodno udeležbo, 26.-29. september 2007. Zbornik povzetkov. Ljubljana: Slovensko biokemijsko društvo, 2007, str. 70.	
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	
	COBISS.SI-ID	21158439	
2.	Naslov	SLO	Ekspresija profilov izbranih genov v listih različnih vrst fižola pod sušnim stresom.
		ANG	The expression profiles of selected genes in leaves of different beans species ( <i>Phaseolus</i> spp.) under drought stress.
	Opis	SLO	Analiza relativne genske ekspresije z uporabo qPCR je pokazala da je način izražanja transkriptov konsistenten med štirimi vrstami fižola. Rezultati kažejo na da so ti transkripti v splošni odziv na sušni stres. Obetajoče rezultate smo dobili v preliminarni študiji z uporabo mikročip tehnologije, kjer smo uporabili sojin GeneChip Array (Affymetrix). Skoraj 15% od 3500 setov prob je pokazalo na transkripte, ki so vključeni v odziv na sušni stres.
		ANG	Relative gene expression analysis using qPCR showed that the mode of the expression of these transcripts is consistent among the four studied <i>Phaseolus</i> species. The results indicate that these transcripts are involved in the general response to drought stress. Promising results were obtained in our preliminary study using microarray technology and soybean GeneChip Array (Affymetrix). Almost 15% of the 35000 probe sets were identified which consistently detected transcripts in control and water-stressed plants of bean genotype Tiber and many of them showed different mode of expression.
	Šifra	F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj
	Objavljeno v	MEGLIČ, Vladimir, KAVAR, Tatjana, MARAS, Marko, KIDRIČ, Marjetka, ŠUŠTAR VOZLIČ, Jelka. The expression profiles of selected genes in leaves of different beans species ( <i>Phaseolus</i> spp.) under drought stress. V: ANNICCHIARICO, Paolo (ur.). Integrating legume science and crop breeding. Novi Sad: Institute of Field and Vegetale Crops, 2008, str. 118.	
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	
	COBISS.SI-ID	2845544	
3.	Naslov	SLO	Odziv na sušni stres v listih navadnega fižola.
		ANG	Responses to drought stress in leaves of common bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).
	Opis	SLO	Identifikacija genov katerih izražanje je spremenjeno v primeru suše je pomemben prvi korak pri razumevanju procesa odpornosti na sušo pri navadnem fižolu. Spremembe v izražanju genov v listih pri različnih stopnjah sušnega stresa smo identificirali z DDRT PCR in potrdili z kvantitativnim PCR v realnem času. Odziv 15 transkriptov je bil signifikantno spremenjen ( $p < 0.05$ ) pri vseh sortah in obeh režimih suše. 8 transkriptov je imelo povečan odziv, 7 pa zmanjšan. Za pet identificiranih genov smo prvič pokazali, da vplivajo na odziv na sušni stres.
		ANG	The identification of genes whose expression is altered under conditions of drought is an important first step towards understanding the response of this species. Changes in gene expression in their leaves at different levels of dehydration were identified by differential display reverse transcriptase PCR and confirmed by quantitative real-time PCR. The levels of 15 transcripts were changed significantly ( $p < 0.05$ ) in all cultivars under both growth conditions, 8 being increased and seven decreased. Five of the genes identified have not previously been reported as being influenced by drought.
	Šifra	F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj
	Objavljeno v	MEGLIČ, Vladimir, KAVAR, Tatjana, KIDRIČ, Marjetka, ŠUŠTAR VOZLIČ, Jelka, MARAS, Marko, BUDIČ, Maruška. Responses to drought stress in leaves of common bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.). V: The International Conference on the Status of Plant and Animal Genome Research, January 13-17, 2007, San Diego, CA. Plant & animal genome XV : January 13-17, 2007, San Diego, CA : final abstract guide. [s. l.: s. n., 2007], str. 205,	



		P417.
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
	COBISS.SI-ID	2474344
4.	Naslov	SLO Spremembe v ravni aktivnosti serinskih proteaz, ki spremljajo odziv navadnega fižola na sušni stres.
		ANG Changes in levels of activity of serine proteases accompany the exposure of common bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) to water deficit.
	Opis	SLO Pri rastlinah obstaja široka paleta proteolitskih encimov. Njihova raven je odvisna od pretvorbe proteinov, osnovne komponente pri razvoju rastlin in adaptacije okoljskim razmeram. Objave kažejo, da cisteinske proteaze pogosto vplivajo na odziv na sušni stres, malo objav pa kaže na vpliv serinskih proteaz. Naši rezultati kažejo na številne vloge serinskih proteaz pri odzivu na sušni stres, od povečanega pretvorbe proteinov do zmanjšane proteolize na specifičnih mestih.
		ANG A wide variety of proteolytic enzymes exist in plants. On their levels depends protein turnover, a fundamental component in plant development and adaptation to environmental conditions. Cysteine proteases have frequently been reported to be influenced by drought, but only a few serine proteases (SP). Our results point to a number of roles for different SPs in the plant response to water stress, which could range from enhanced protein turnover to limited proteolysis at specific sites.
	Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v	BUDIČ, Maruška, ŠOŠTARIČ, Maja, CIGIČ, Blaž, KIDRIČ, Marjetka, MEGLIČ, Vladimir. V: JURKOVIČ, Draženka (ur.). Workshop on Plant Breeding and Biotechnology in the Great Pannonian Region - Present and Future Needs, April 7-9, 2008, Beli Manastir and Osijek, Croatia. Book of abstracts, (Agriculture, vol. 14, br. 1 (Suppl.) 2008). Osijek: J. J. Stros Mayer University of Osijek, 2008, str. 23.
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
COBISS.SI-ID	2702696	
5.	Naslov	SLO Kloniranje in ekspresija dveh serinskih proteaz pri navadnem fižolu, ki se odzivata na sušni stres.
		ANG Cloning and expression of two <i>Phaseolus vulgaris</i> L. drought-responsive serine protease genes.
	Opis	SLO Razvili smo postopek cimografije s fluorescentnimi substrati, ki nam je odkril heterogenost serinskih proteaz in nam omogočil detektirati kvantitativne relativne proteolitske aktivnosti v listih fižola. Nivoji nekaterih serinskih proteaz so se razlikovali na različne načine v sušnem stresu. Izolirali smo serinsko proteazo (BSP) in phenylalanyl aminopeptidazo (FAP) vključeno v odziv fižola na sušo ter klonirali bsp in fap gene. Poleg tega pa smo analizirali gensko ekspresijo BSP in FAP v listih pri rastlinah izpostavljenih suši.
		ANG We developed a procedure, involving zymography with fluorescent substrates, which has revealed the heterogeneity of serine proteases and enabled us to detect and quantitate relative proteolytic activities in bean leaves. Levels of several serine proteases changed in different ways under water deficit. We isolated a serine protease (BSP) and a phenylalanyl aminopeptidase (FAP) involved in the response of <i>P. vulgaris</i> to drought and cloned bsp and fap genes. We studied the gene expression of BSP and FAP in leaf tissues of plants submitted to water deficit.
	Šifra	F.02 Pridobitev novih znanstvenih spoznanj
	Objavljeno v	BUDIČ, Maruška, SABOTIČ, Jerica, KOS, Janko, MEGLIČ, Vladimir, KIDRIČ, Marjetka. Cloning and expression of two <i>Phaseolus vulgaris</i> L. drought-responsive serine protease genes. V: GOLIČNIK, Marko (ur.), BAVEC, Aljoša (ur.). Joint Congress of the Slovenian Biochemical Society and the Genetic Society of Slovenia with International Participation, Otočec, September 20-23, 2009. Book of abstracts. Ljubljana: Slovenian Biochemical Society: Genetic Society of Slovenia, 2009, str. 155.
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
COBISS.SI-ID	3110760	

## 8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine<sup>2</sup>



## 9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine<sup>8</sup>

### 9.1. Pomen za razvoj znanosti<sup>9</sup>

SLO

Za rastline je izredno pomemben ustrezen odziv na zunanje dražljaje na celičnem nivoju, zlasti v primeru stresa zaradi neugodnih pogojev okolja. Rastline so zato razvile fiziološke in biokemične mehanizme, ki jim omogočajo preživetje in ki jih, kljub temeljitemu proučevanju, še zdaleka ne bomo popolnoma razumeli. Rezultati našega projekta so doprinos razumevanju odziva pomembne poljščine, navadnega fižola (*Phaseolus vulgaris*), na sušo, ki je glavni omejitveni faktor v rastlinski pridelavi.

Čeprav je bila osnova predlaganega projekta vzgoja linij odpornih na sušo, ki bodo nadalje vključene v proces selekcije, so bazične raziskave na področju diferencialnega izražanja genov in aktivnosti proteolitičnih encimov, kot je bila naša, nujne za razumevanje elementov in mehanizmov odpornosti rastlin. Pri nekaterih modelnih rastlinah so že ugotovili, da se pod vplivom suše spreminja izražanje velikega števila genov. Rezultati tega projekta pa so med prvimi objavljenimi za navadni fižol. Dočim smo pokazali, da vsaj šest identificiranih transkriptov, različno akumuliranih pod vplivom suše pri fižolu, ustreza tistim, katerih izražanje se spremeni v suši pri *Arabidopsis thaliana*, za pet od genov, ki smo jih identificirali, dosedaj ni bilo objavljeno, da na njih vpliva pomanjkanje vode. Pomembno je tudi, da nobeden od genov, ki smo jih identificirali v fižolovih listih, ne ustreza tistim, za katere so objavili, da se njihovo izražanje spreminja pod vplivom suše v fižolovih koreninah. Čeprav je dobro znano, da imajo proteaze pomembno vlogo v življenju, obrambnih mehanizmih in staranju rastlin, se relativno malo ve o njihovi vpletenosti v odziv na sušo. Rezultati projekta, ki so pokazali, da je vpleteno več serinskih endo- in aminopeptidaz, pomenijo nov korak v razumevanju pomembnega procesa regulacije razgradnje proteinov v suši. Zlasti je zanimiva fenilalaninska aminopeptidaza iz fižolovih listov, ki sodi med redke do sedaj opisane serinske aminopeptidaze in med redke rastlinske fenilalaninske aminopeptidaze. Podali smo osnove za nadaljne raziskave strukture identificiranih proteolitičnih encimov, genov ki jih kodirajo in njihove vloge v odzivu na sušo. Rezultati projekta so odprli pot za primerjavo genske ekspresije in delovanja proteolitičnih encimov v fižolovih vrstah in sortah različnih občutljivosti, kar bo omogočilo podrobno razumevanje posameznih celičnih mehanizmov pri izražanju genov za odpornost. Obstaja tudi možnost izboljšanja odpornosti rastlin s transformacijo z geni, ki so naravno prisotni v rastlinah. Da bi zasnovali učinkovite sisteme za spremembe rastline na nivoju genov in da bi predvideli posledice, je bistvenega pomena čim temeljitejše poznavanje metaboličnih procesov in njihove kontrole, kjer tudi lahko vidimo doprinos projekta. Poleg tega smo izbrali in razvili populacije za mapiranje, kar je osnova ter najpomembnejši del za bodoča genska in QTL mapiranja. Prvi znanstveni rezultati so že objavljeni v uglednih revijah, drugi pa so v pripravi za objavo.

ANG

An appropriate response to external stimuli at the cellular level is of fundamental importance to the continuing existence of plants, particularly in the case of stress from adverse environmental conditions. Plants have therefore developed both physiological and biochemical mechanisms that enable their survival which, although extensively studied, are far from completely understood. The results of our project are showing significant contribution for understanding the response of a common bean (*Phaseolus vulgaris*) to drought, which is a major limiting factor in crop production.

Although the main thrust of the present project is towards creating plants that are more resistant to drought, the biochemical and genetic investigations that are necessary to achieve this end are leading to important basic understanding of elements of the mechanisms of plant resistance, such as differential display of genes and activity of proteolytic enzymes. The expression of many genes is altered under the influence of drought in some model plants. The data of this project are among the first results that are published for the common bean. At least six transcripts corresponded to those whose expression is altered under drought in *Arabidopsis thaliana*. Five of the genes identified have not previously been reported as being influenced by drought. None of the identified genes corresponded to those influenced by drought in roots of *P.* Although it is well known that proteases play an important role in the life, defence mechanisms and senescence of plants, relatively little is known about their involvement in response to drought. The project results, which showed more involved serine endo- and aminopeptidases, present a new important step in understanding the process of regulation of protein degradation in

drought. In particular, a phenylalanine aminopeptidases from bean leaves, which are among the few so far described serine aminopeptidases. Mentioned phenylalanine aminopeptidases are very rare in plants. The basis for further research was made through the identification of proteolytic enzymes encoded by genes and their role in the response to drought. The results of the project are showing the way for comparison of gene expression and activity of proteolytic enzymes in bean species and varieties of different sensitivity and will allow a detailed understanding of specific cellular mechanisms in the expression of genes for resistance. There is also the possibility of improving resistance of plants transformed with genes that are naturally present in plants. In order to design effective systems for modified plants on the level of genes and to predict the consequences, it is essential to make completely understanding of metabolic processes and their controls. In addition, we have selected and developed populations for the mapping, which is the basis and most important part for future genetic and QTL mapping. First scientific results were already published in respected journals, the rest of them are being prepared for publication.

## 9.2. Pomen za razvoj Slovenije<sup>10</sup>

SLO

Projekt in njegovi rezultati se uklaplajo v Strategijo razvoja slovenskega kmetijstva in druge razvojne dokumente, v katerih je opredeljena usmeritev v stabilno pridelavo kakovostne in čim cenejše hrane ter zagotavljanje prehranske varnosti Slovenije. Okolju prijazni načini pridelave, ki se odražajo v ohranjanju rodovitnosti tal, varovanju okolja, ohranjanju biotske raznovrstnosti in tradicionalne podeželske krajine, so opredeljeni v Nacionalnem programu varstva okolja. Kakovosten sortiment, ki mora biti prilagojen na lokalne razmere, hkrati pa mora tudi ustrezati okusu domačega potrošnika, predstavlja osnovo za konkurenčno in trajnostno pridelovanje katerekoli kmetijske rastline. Izbor navadnega fižola je bil nameren, ker smo se zavedali pomena njegove hranilne in gospodarske vrednosti.

Po drugi strani je raziskava odziva te stročnice na sušo, zlasti na biokemičnem in molekularno biološkem nivoju, pomembna za Slovenijo, ker so tudi tu zadnje čase vse pogostejša sušna obdobja. Razvoj novih rastlinskih sort, ki bi zagotavljale ustrezne donose v rastlinski proizvodnji v sušnih razmerah pri nas, je za slovenske žlahtnjitelje velik izziv, kajti voda je eden od glavnih omejitvenih faktorjev v kmetijstvu, njeno pomanjkanje pa lahko znatno zmanjša pridelek posevka.

S tem projektom uvajamo v Slovenijo uporabo genetskih kart z genetskimi markerji, ki označujejo lokuse za kvalitativne in kvantitativne lastnosti (QTL) povezane s sušo pri fižolu. Take karte so se po svetu pokazale kot velik napredek v žlahtnjiteljskih procesih. Tovrstni genetski markerji so osnova za izvajanje 'selekcije s pomočjo markerjev' (angl. marker assisted selection, MAS). Metoda MAS je bila v žlahtnjiteljske procese vpeljana predvsem zaradi možnosti: 1) sledenja zaželenih alelov v zaporednih generacijah, kar omogoča kopičenje različnih agronomsko pomembnih alelov, 2) identifikacije in selekcije primernih genotipov v segregirajočih populacijah ter 3) razbijanja povezav med zaželenimi aleli in nezaželenimi lokusi. QTL analiza ponuja neomejene možnosti identifikacije kromosomskih regij, ki so odgovorne za fiziološke, morfološke in razvojne spremembe med rastjo rastlin ob nezadostni oskrbi z vodo. V sklopu našega projekta smo pripravili linije, ki so podlaga za QTL analize in izdelavo genetske karte navadnega fižola. Le-ta bo služila odkrivanju QTL, povezanih z višino pridelka ali pa izražanjem lastnosti rastlin, odgovornih za raven tolerance na sušo. Uporaba markerjev, povezanih s QTL v MAS bo osnova za kopičenje QTL v sortah navadnega fižola. Takšna strategija nam bo omogočila razvoj novih sort z visokim potencialom donosnosti in stabilnosti pridelka tudi v sušnejših rastnih pogojih.

ANG

In the strategy for and documentation on development of Slovene agriculture, the direction is defined as creating sustainable production of quality, affordable foodstuffs. Methods of production that ensure preservation of soil fertility, protection of the environment, conservation of biotic diversity and traditional country regions are defined in the National programme of environment protection. Quality assortment, which should be adapted to local conditions and, at the same time has to be appropriate to the taste of the local consumer, is the basis for competitive and sustainable production of any agricultural crop. Selection of a common bean was made by intention, because of the importance of its nutritional and economic value. On the other hand, periods of drought become more and more frequent in Slovenia. For this reason a study of the response of crops to drought, especially in the biochemical and molecular biological level, is becoming very important for Slovenian agriculture. The development of new plant varieties that would provide appropriate yield in crop production in Slovenian drought conditions, is for Slovenian breeding experts a big challenge, because water is one of the main limiting factors in agriculture and its deficit can significantly reduce crop yield. With this project, we introduce the use of genetic maps with genetic markers that indicate the

quantitative traits loci (QTL) associated with drought in common beans. Genetic maps for many important agricultural traits were shown as a major advance in the breeding processes. Exploitation of the information derived from the map position of traits with agronomical importance and of the linked molecular markers, can be achieved through marker assisted selection (MAS) of the traits during the breeding process. In general and for our plant breeding programs, the most useful application of MAS is to use DNA-based markers for basically three purposes: (1) tracing favorable allele(s) (dominant or recessive) across generations; in order to accumulate favorable alleles, (2) identifying the most suitable individuals among segregating progenies, based on the allelic composition of a part or of the entire genome and (3) breaking the possible linkage of favorable alleles with undesirable loci.

The application of QTL analysis offers unprecedented opportunities to identify chromosome regions controlling variations in almost all the physiological, morphological and developmental changes observed during plant growth in water-limiting conditions. In the present research mapping populations were prepared and underlie and are to be used for genetic mapping of common bean. Our aim in the future is to discover QTLs affecting yield under drought or the expression of drought tolerance-related traits. This would allow us to accumulate the most effective QTLs into elite genotypes. This strategy will lead to new cultivars with high yield potential and high yield stability that in turn will result in superior performance in dry environments.

### 10. Samo za aplikativne projekte!

**Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri aplikativnem projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni**

Cilj		
<b>F.01</b>	<b>Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.02</b>	<b>Pridobitev novih znanstvenih spoznanj</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.03</b>	<b>Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.04</b>	<b>Dvig tehnološke ravni</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.05</b>	<b>Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.06</b>	<b>Razvoj novega izdelka</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.07</b>	<b>Izboljšanje obstoječega izdelka</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.08</b>	<b>Razvoj in izdelava prototipa</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.09</b>	<b>Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.10</b>	<b>Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.11</b>	<b>Razvoj nove storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.12</b>	<b>Izboljšanje obstoječe storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.13</b>	<b>Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.14</b>	<b>Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.15</b>	<b>Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.16</b>	<b>Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.17</b>	<b>Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.18</b>	<b>Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.19</b>	<b>Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.20</b>	<b>Ustanovitev novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.21</b>	<b>Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.22</b>	<b>Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.23</b>	<b>Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.24</b>	<b>Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.25</b>	<b>Razvoj novih organizacijskih in upravljaljskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.26</b>	<b>Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.27</b>	<b>Prispevek k ohranjanju/varovanju naravne in kulturne dediščine</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.28</b>	<b>Priprava/organizacija razstave</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.29</b>	<b>Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.30</b>	<b>Strokovna ocena stanja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.31</b>	<b>Razvoj standardov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.32</b>	<b>Mednarodni patent</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.33</b>	<b>Patent v Sloveniji</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.34</b>	<b>Svetovalna dejavnost</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

<b>F.35</b>	<b>Drugo</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

**Komentar**

**11. Samo za aplikativne projekte!**

Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
<b>G.01</b>	<b>Razvoj visoko-šolskega izobraževanja</b>					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.02</b>	<b>Gospodarski razvoj</b>					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.03</b>	<b>Tehnološki razvoj</b>					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.04</b>	<b>Družbeni razvoj</b>					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	



G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.05.</b>	<b>Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.06.</b>	<b>Varovanje okolja in trajnostni razvoj</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.07</b>	<b>Razvoj družbene infrastrukture</b>					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.08.</b>	<b>Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.09.</b>	<b>Drugo:</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

**Komentar**

--

**12. Pomen raziskovanja za sofinancerje, navedene v 2. točki<sup>11</sup>**

1.	<b>Sofinancer</b>			
	<b>Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:</b>			<b>EUR</b>
	<b>Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:</b>			<b>%</b>
	<b>Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja</b>			<b>Šifra</b>
		1.		
		2.		
		3.		
	4.			
	5.			
	<b>Komentar</b>			
	<b>Ocena</b>			
2.	<b>Sofinancer</b>			
	<b>Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:</b>			<b>EUR</b>
	<b>Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:</b>			<b>%</b>
	<b>Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja</b>			<b>Šifra</b>

	1.		
	2.		
	3.		
	4.		
	5.		
<b>Komentar</b>			
<b>Ocena</b>			
3.	<b>Sofinancer</b>		
<b>Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:</b>			<b>EUR</b>
<b>Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:</b>			<b>%</b>
<b>Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja</b>			<b>Šifra</b>
	1.		
	2.		
	3.		
	4.		
	5.		
<b>Komentar</b>			
<b>Ocena</b>			

### C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja, za objavo 6., 7. in 8. točke na spletni strani <http://sicris.izum.si/> ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

#### Podpisi:

Vladimir Meglič	in	
podpis vodje raziskovalnega projekta		zastopnik oz. pooblaščen oseba RO

Kraj in datum:

Ljubljana

20.4.2010

**Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2010-1/154**

<sup>1</sup> Samo za aplikativne projekte. [Nazaj](#)

<sup>2</sup> Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja ter rezultate in učinke raziskovalnega projekta. Največ 18.000 znakov vključno s presledki (približno tri strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>3</sup> Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>4</sup> Samo v primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>5</sup> Navedite največ pet najpomembnejših znanstvenih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov v slovenskem in angleškem jeziku (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki) v slovenskem in angleškem jeziku, navedite, kje je objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote. Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>.

**PRIMER** (v slovenskem jeziku):

**Naslov:** Regulacija delovanja beta-2 integrinskih receptorjev s katepsinom X;

**Opis:** Cisteinske proteaze imajo pomembno vlogo pri nastanku in napredovanju raka. Zadnje študije kažejo njihovo povezanost s procesi celičnega signaliziranja in imunskega odziva. V tem znanstvenem članku smo prvi dokazali... (največ 600 znakov vključno s presledki)

**Objavljeno v:** OBERMAJER, N., PREMŽL, A., ZAVAŠNIK-BERGANT, T., TURK, B., KOS, J.. Carboxypeptidase cathepsin X mediates  $\beta 2$  - integrin dependent adhesion of differentiated U-937 cells. Exp. Cell Res., 2006, 312, 2515-2527, JCR IF (2005): 4.148

**Tipologija:** 1.01 - Izvirni znanstveni članek

**COBISS.SI-ID:** 1920113 [Nazaj](#)

<sup>6</sup> Navedite največ pet najpomembnejših družbeno-ekonomsko relevantnih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki), izberite ustrezen rezultat, ki je v Šifrantu raziskovalnih rezultatov in učinkov (Glej: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/sif-razisk-rezult.asp>), navedite, kje je rezultat objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote.

Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>. [Nazaj](#)

<sup>7</sup> Navedite rezultate raziskovalnega projekta v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov vključno s presledki. [Nazaj](#)

<sup>8</sup> Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja. [Nazaj](#)

<sup>9</sup> Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>10</sup> Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>11</sup> Rubrike izpolnite/prepišite skladno z obrazcem "Izjava sofinancerja" (<http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>), ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2010 v1.00a

B9-C0-81-67-34-0B-6F-34-05-EF-AC-A4-1B-B4-33-5D-D1-FD-16-09