

Molekularne tehnike u fitopatologiji (169423)

Nositelj predmeta

[prof. dr. sc. Edyta Đermić](#)

Opis predmeta

Modul obrađuje osnovne molekularne tehnike kojima se u fitopatologiji vrši identifikacija i analizira srodnost tj. raznolikost među biljnim patogenima (izolacija i elektroforetska analiza bioloških makromolekula, hibridizacija nukleinskih kiselina (dot blot), različite PCR-tehnike i sl.) ali i napredne serološke metode (IF). Studenti će biti upoznati s opremom u molekularnom laboratoriju te će sudjelovati u njenom korištenju. U sklopu ovog modula studenti će steći znanja o svim aparatima i kemikalijama potrebnim za navedene molekularne analize kao i o neophodnim mjerama opreza u radu u laboratorijima ovog tipa. Na primjeru izabranog bakterijskog patogena pokazat će se studentima molekularno dokazivanje bakterije primjenom PCR tehnike te će se studente upoznati s molekularnom dijagnostikom u fitomikologiji. Identifikacija izabranog virusa realizirat će se metodom izolacije dvolančane RNK i njenom elektroforetskom analizom u agaroznom gelu primjenom «submarine» elektroforeze.

ECTS: **3.00**

Engleski jezik: **R1**

E-učenje: **R3**

Sati nastave: 30

Predavanja: 13

Laboratorijske vježbe: 12

Seminar: 5

Izvođač predavanja

- [prof. dr. sc. Edyta Đermić](#)

Izvođač vježbi

- [prof. dr. sc. Darko Vončina](#)
- Katarina Martinko, mag. ing. agr.
- Martin Jagunić, mag. ing. agr.

Izvođač seminara

- [prof. dr. sc. Edyta Đermić](#)

Ocjenjivanje

Dovoljan (2): 60-70%

Dobar (3): 71-80%

Vrlo dobar (4): 81-90%

Izvrstan (5): 91-100%

Uvjeti za dobivanje potpisa

Redovito pohađanje i sudjelovanje na predavanjima i vježbama je obavezno prema Statutu Fakulteta (80 % obavezno pohađanje predavanja i 85 % vježbi) te prezentacija seminara.

Opis

Pisani ispit.

Vrsta predmeta

- Diplomski studij / [Fitomedicina](#) (Izborni predmet, 2. semestar, 1. godina)

Opće kompetencije

Stječu se znanja o molekularnim tehnikama neophodnima u dokazivanju pojedinih važnih skupina biljnih patogena i analiziranju njihove međusobne srodnosti. Stjecanje znanja o funkcioniranju fitopatološkog laboratorija i vještina potrebnih za organiziranje rada u fitopatološko molekularnom laboratoriju. Stjecanje kompetencije za rad u molekularnom fitopatološkom laboratoriju, uključujući rad sukladno protokolima i reagensima, priborom ali i opremom.

Oblici nastave

- **Predavanja**
Modul sadrži cjeline u kojima se detaljno obrađuju bakterioze i fitoplazmoze pojedinih poljoprivrednih kultura: voćaka, vinove loze, povrtnih kultura, ratarskih i industrijskih kultura. U pojedinoj tematskoj cjelini će se detaljno obrađivati odabrane bakterioze i fitoplazmoze pojedinih poljoprivrednih kultura i to tako da će se studenti moći upoznati sa simptomima koje uzrokuju pojedine bakterije odn. fitoplazme, njihov životni ciklus i načini prenošenja i održavanja u prirodi te prijenos putem različitih vektora, ekonomski značaj te mjere prevencije i eradikacije kojima se mogu umanjiti štetne posljedice koje uzrokuju. Pri upisu modula svaki student će navesti svoj specijalistički interes za određeno područje u fitobakteriologiji te će mu, na temelju interesa, biti omogućeno dodatno fokusirano specijaliziranje izabranog dijela fitobakteriologije.
- **Laboratorijske vježbe**
Kroz praktični dio modula studenti će se upoznati s dijagnostičkim protokolima za određivanje različitih vrsta fitopatogenih bakterija kao i metode analize srodnosti izolata. Bit će obrađene metode uzorkovanja zaraženih biljaka, metode izolacije fitopatogenih bakterija iz zaraženog biljnog tkiva, kultivacija bakterijskih izolata na hranjivim medijima, izolacija i održavanje čistih kultura, različite klasične laboratorijske tehnike koje se provode s ciljem identifikacije bakterija i fitoplazmi kao i suvremene serološke tehnike (ELISA-test) te tehnike koje se bave genomom (PCR).
- **Seminari**
Praktični rad studenta uključivat će i izradu eseja koji će zahtijevati korištenje najnovijih znanstvenih spoznaja raspoloživih iz različitih znanstvenih izvora (tiskana literatura, baze podataka, internet), a koji će student braniti pri polaganju ispita.

Ishodi učenja i način provjere

Ishod učenja	Način provjere
nabrojati glavne skupine molekularnih dijagnostičkih tehnika	Unutar pisanog ispita.
moći će sistematizirati slijed tehnika pri dijagnosticiranju biljnog patogena	Unutar pisanog ispita.
iskazati prednosti i nedostatke molekularnih dijagnostičkih tehnika	Unutar pisanog ispita.
iskazati prednosti i nedostatke konvencionalnih dijagnostičkih tehnika	Unutar pisanog ispita.
iskazati prednosti i nedostatke primjene serološke tehnike IF	Unutar pisanog ispita.
objasniti proceduru, konstituente i posljedice reakcije PCR u primjeni kod različitih skupina patogena	Unutar pisanog ispita.
nabrojati tipove analiza koje se koriste u proučavanju molekularne srodnosti patogena	Unutar pisanog ispita.
odabrati adekvatnu tehniku za molekularno dokazivanje bakterija	Unutar pisanog ispita.
preporučiti adekvatnu tehniku za molekularno dokazivanje većine biljnih virusa	Unutar pisanog ispita.
argumentirati opravdanost primjene molekularnih tehnika u dijagnostici biljnih patogena	Unutar pisanog ispita.

Način rada

Obveze nastavnika

Nastavnici su obavezni primjenom prikladnih nastavnih metoda u okviru teoretske i praktične nastave omogućiti studentima stjecanje znanja i kompetencija zacrtanih planom modula. Studente će upoznati sa specifičnostima molekularnih tehnika u fitopatologiji. Tijekom redovitog održavanja nastave u okviru ovog jednosemestralnog izbornog modula, kompetentni nastavnici - sudionici obrazovnog procesa trebaju razvijati studentske kompetencije. Nastavnici ujedno prate i usmjeravaju rad studenata s pripadajućom znanstvenom i stručnom literaturom te razvijaju interes studenata za njenim korištenjem kao i za timskim radom unutar različitih oblika nastave zacrtanim planom modula, a posebno u okviru seminarskog rada.

Obveze studenta

Od studenata se unutar ovog modula očekuje redovito i angažirano pohađanje i sudjelovanje u svim oblicima nastave, te savladavanje nastavnih ciljeva. Studenti su obavezni u okviru skupina od po 2-3 studenta izraditi seminarski rad pri čemu će detaljno obraditi pojedinu molekularnu tehniku (sukladno njihovom prijedlogu i uz konzultacije s predmetnim nastavnikom) čime će se obogatiti njihovo znanje o biljnim bolestima i potaknuti kreativnost i kritičko mišljenje.

Polaganje ispita

Elementi praćenja	Maksimalno bodova ili udio u ocjeni	Bodovna skala ocjena	Ocjena	Broj sati izravne nastave	Ukupni broj sati rada prosječnog studenta	ECTS bodovi
Pohađanje nastave (P13+V(L)12)				25	25	
Seminarski rad (S5; priprema+p rezentacija)				5	15	0,6
Pisani ispit	100 %	0-59 % 60-70 % 71-80 % 81-90 % 91-100%	Nedovoljan (1) Dovoljan (2) Dobar (3) Vrlo dobar (4) Izvrstan (5)		50	2,4
Ukupno	100 %	0-100 %	1-5	30	90	3

Tjedni plan nastave

1. Laboratorijska oprema u molekularnoj biologiji - P: Upoznavanje sa sadržajem modula. Uvodno upoznavanje laboratorijske opreme i pribora uz instrukcije o uporabi (laminar za sterilni rad, inkubatori, centrifuge, precizne vage, termostati, pH-metri). Osnovne molekularne tehnike u biljnoj patologiji - P: Osnovne činjenice o serološkim dijagnostičkim protokolima (imunodifuzije, DASI-ELISA, imunofluorescencija).
2. Laboratorijska oprema u molekularnoj biologiji - P: Detaljno upoznavanje s opremom za provođenje lančane reakcije polimerazom - PCR (Thermocycler, elektroforeze, transiluminator, oprema za fotografiranje gelova).
3. Osnovne molekularne tehnike u biljnoj patologiji - P: Različite PCR-tehnike.
4. Osnovne molekularne tehnike u biljnoj patologiji - P: Primjena elektroforetskih tehnika kod analiziranja različitih bioloških makromolekula.
5. Laboratorijska oprema u molekularnoj biologiji - P: Priprema pribora i reagensa koji za molekularne analize (vaganje, izračunavanje potrebnih koncentracija, razrjeđenja, suspendiranje primera). Seminar - S: Odabir tema za seminarske radove
6. Osnovne molekularne tehnike u biljnoj patologiji - P: Molekularne hibridizacije - izvedbe s različitim tipovima molekula. Prednosti molekularnih metoda - P: Uvod - opće zajedničke karakteristike molekularnih metoda korištenih u fitopatologiji.
7. Prednosti molekularnih metoda - P: Prednosti molekularnih dijagnostičkih tehnika pred klasičnim dijagnostičkim tehnikama. Seminar - S: Rasprava o odabranim temama, raspoloživoj literaturi te ostvarenom progresu u izradi seminarskih radova. Izlaganje seminarskih radova-studenti koji su završili seminarske radove, a koje je pregledao i korigirao nastavnik.
8. Metode izolacije DNK i RNK - L: Praktična primjena različitih fizikalnih i kemijskih agensa u protokolima kojima se izoliraju nukleinske kiseline.
9. Prednosti molekularnih metoda - P: Analiza prednosti molekularnih dijagnostičkih tehnika pred klasičnim dijagnostičkim tehnikama u smislu analize realnih poteškoća koje se javljaju pri provedbi protokola u molekularnom laboratoriju.
10. Prednosti molekularnih metoda - P: Analiza prednosti molekularnih dijagnostičkih tehnika pred klasičnim dijagnostičkim tehnikama u smislu njihove brzine, preciznosti, mogućnosti analiziranja većeg broja uzoraka, primjerenost za analiziranje diverziteta u populaciji patogena, te prikupljanja kao i pohrane/analize velikog skupa dobivenih rezultata (podataka). PCR tehnike - L: Priprema za provedbu procedure lančane reakcije polimerazom (PCR).
11. PCR tehnike - L: Provedba dijagnostičkog protokola lančane reakcije polimerazom (PCR) kod izabranog biljnog patogena (virusi).
12. Elektroforetske metode - L: «Submarine» horizontalna elektroforeza u agaroznom gelu.
13. Primjena metoda kod najvažnijih patogena - L: Provedba dijagnostičkog protokola lančane reakcije polimerazom (PCR) kod izabranog biljnog patogena (bakterije). Molekularno dokazivanje bakterije *Erwinia amylovora* (uzročnika bakterijske paleži jabuke i kruške) primjenom PCR-tehnike - umnožavanje fragmenata kromosomske i plazmidne DNA. Seminar - S: Rasprava o odabranim temama seminara, raspoloživoj literaturi te eventualnim problemima pri izradi seminarskih radova. Izlaganje seminarskih radova-studenti koji su završili seminarske radove, a koje je pregledao i korigirao nastavnik.
14. Primjena metoda kod najvažnijih patogena - L: Elektroforetska analiza nukleinskih kiselina (odabrani biljni patogen: virus ili bakterija)
15. Seminar - S: Izlaganje seminarskih radova koje je prethodno pregledao i korigirao nastavnik.

Obvezna literatura

1. Predavanja u formi multimedijalnih prezentacija (dostupno polaznicima posredstvom platforme Merlin)
2. Ambriović Ristov, A., Brozović, A., Bruvo Mađarić, B., Četković, H., Herak Bosnar, M., Hranilović, D., Katušić Hećimović, S., Meštrović Radan, N., Mihaljević, S. Slade, N., Vujaklija, D. (ur.), Metode u molekularnoj biologiji (odabrana poglavlja). Zagreb: Institut Ruđer Bošković. 2007.
3. Juretić, N. (2002). Osnove biljne virologije (odabrana poglavlja). Zagreb: Školska knjiga.
4. Ausubel, F., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A., Struhl, K. eds.(2002). Short Protocols in Molecular Biology (odabrana poglavlja). -5th ed., John Wiley & Sons, Inc.
5. Đermić, Edyta (2007). Fitopatogene bakterije i bakterioze: interna skripta (odabrana poglavlja). Zagreb: vlast. nakl.
6. Đermić, Edyta (2011). Molekularne tehnike u fitopatologiji: interna skripta. Zagreb: vlast. nakl.
7. Đermić, Edyta, Vončina, D, (2011). Vježbe iz molekularnih tenika u fitopatologiji: interna e-skripta

Preporučena literatura

1. Agrios, G.N., (2005). Plant Pathology . -5th ed., Elsevier Academic Press..
2. Janse, J. D. (2005). Phytobacteriology. Walingford: CABI Publishing.
3. Khan, A.J., Dijkstra, J. (2006). Handbook of Plant Virology. New York, London, Oxford: Food Products Press.
4. Klement, Z., Rudolph, L., Sands, D.C., (1990). Methods in Phytobacteriology Budapest: Akademia Kiado , Nyomda Valalat.
5. Schots, A., Dewey, F.M.,Dewey. Oliver,R. (1994). Modern assays for plant pathogenic fungi: indetification, detection, and quantification. Walingford: CAB INTERNATIONAL.

Sličan predmet na srodnim sveučilištima

- Applied Molecular Microbiology, University of Wageningen, Netherlands.
- Phytopathological diagnosis and biotechnology, University of Bari, Italy
- Toolbox molecular biology, University of Wageningen, Netherlands.