



Molekularne metode u mikrobnj agroekologiji (116622)

Nositelj predmeta

[prof. dr. sc. Mirna Mrkonjić Fuka](#)

Opis predmeta

Mikroorganizmi su sastavni dio različitih sredina poput tla, namirnica i vode. Danas je nezamislivo istraživati mikrobn raznolikost bilo kojeg agroekosustava bez poznavanja i primjene molekularno-mikrobioloških metoda. Cilj ovog predmeta je, upoznati studente sa osnovnim molekularno-mikrobiološkim metodama u analizama tla, hrane i vode te ih osposobiti da primjene i integriraju stečena znanja u istraživanjima u agroekologiji. Predavanja će biti usredotočena na razumijevanje osnovnih molekularno - mikrobioloških metoda te njihovu primjenu u kompleksnim analizama u agroekologiji. Predavanja će biti ujedno i teoretski uvod u određene vježbe. Predviđene metode obuhvatit će sve manipulacije s DNA. Od izolacije ukupne DNA iz tla i hrane, preko izolacije DNA iz bakterija i kvasaca do izolacije plazmidne DNA. Također će se umnažati DNA metodom PCR te će specifični fragmenti biti ligirani s vektorom te klonirani u stanice domaćina. Transformirane stanice će se analizirati restrikcijskim endonukleazama, PCR-om i sekvenciranjem. Identifikacija vrsta i sojeva mikroorganizama relevantnih u poljoprivredi određivat će se različitim molekularnim tehnikama (PCR-RFLP, RAPD, rep-PCR). Također će biti naglašena važnost molekularnih metoda (T-RFLP, SSCP, DGGE, AP-PCR, Real-Time PCR, MPN PCR, kloniranje) u određivanju raznolikosti i broja mikroorganizama u kompleksnim ekosustavima sa posebnim osvrtom na praktičnu primjenu u agroekološkim studijama. Studentima će se teoretski objasniti principi sekvenciranja DNA i primjene „dubokog sekvenciranja“ (NGS sekvenciranje) u mikrobnj agroekologiji kao i uloga metagenomike i metagenetike.



ECTS: **6.00**

Engleski jezik: **R1**

E-učenje: **R1**

Sati nastave: 60

Predavanja: 30

Laboratorijske vježbe: 28

Seminar: 2

Izvođač predavanja

- [prof. dr. sc. Mirna Mrkonjić Fuka](#)

Izvođač vježbi

- [dr. sc. Sanja Kajić](#)
- Irina Tanuwidjaja, mag. ing. agr.

Izvođač seminara

- Irina Tanuwidjaja, mag. ing. agr.

Ocjenjivanje

Dovoljan (2): 60-70 %

Dobar (3): 71 - 80%

Vrlo dobar (4): 81 - 90%

Izvrstan (5): 91 - 100 %

Uvjeti za dobivanje potpisa

Odslušana predavanja. Odrađene laboratorijske vježbe. Predan laboratorijski dnevenik.

Vrsta predmeta

- Diplomski studij / Agroekologija / [Agroekologija](#) (Izborni predmet, 2. semestar, 1. godina)
- Diplomski studij / Agroekologija / [Mikrobna biotehnologija u poljoprivredi](#) (Izborni predmet, 2. semestar, 1. godina)

Opće kompetencije

Predmet upoznaje studente sa osnovnim molekularno-mikrobiološkim metodama u istraživanju i analizi mikrobne raznolikosti u tlu, hrani i vodi. Nakon odslušanog predmeta studenti će dobiti neophodna teoretska znanja i biti osposobljeni da integriraju i praktično primjene stečena znanja u istraživanjima u agroekologiji.

Oblici nastave

- Predavanja
- Laboratorijske vježbe
U sklopu laboratorijskih vježbi studenti će dobiti praktična znanja iz primjene molekularno-mikrobioloških metoda u istraživanjima u mikrobnoj agroekologiji. Ukupno se izvodi 12 vježbi u skupini od 10 studenata.
- Seminari
Vežan uz projektni zadatak. Studenti će dobiti konkretan problem iz područja mikrobne agroekologije te predložiti i argumentirati metode koje će koristiti za njegovo rješavanje

Ishodi učenja i način provjere

Ishod učenja	Način provjere
Objasniti prednosti i nedostatke metoda za izolaciju i identifikaciju mikroorganizama	Sudjelovanje u raspravama tijekom nastave, radni zadaci, testovi znanja, usmeni ispit
Prepoznati ulogu molekularnih metoda u karakterizaciji i detekciji autohtonih mikrobnih populacija iz različitih agroekosustava	Sudjelovanje u raspravama tijekom nastave, radni zadaci, testovi znanja, usmeni ispit
Razumjeti postupke i metodologiju DNA ekstrakcije iz bakterijskih kultura, tla i hrane	Sudjelovanje u raspravama tijekom nastave, radni zadaci, testovi znanja, usmeni ispit
Primijeniti molekularne metode u istraživanjima u mikrobnjoj agroekologiji te analizi tla i namirnica	Sudjelovanje u raspravama tijekom nastave, radni zadaci, testovi znanja, usmeni ispit
Razviti sposobnost integriranja različitih znanja u području mikrobne agroekologije	Sudjelovanje u raspravama tijekom nastave, radni zadaci, testovi znanja, usmeni ispit
Interpretirati rezultate mikrobioloških analiza tla, hrane i vode	Sudjelovanje u raspravama tijekom nastave, radni zadaci, testovi znanja, usmeni ispit

Način rada

Obveze nastavnika

Organizirati i provoditi predavanja i vježbe
 Pripremiti literaturne izvore za učenje
 Organizirati i provoditi radne zadatke
 Organizirati i provoditi pripremu i obranu seminarских radova
 Organizirati i provoditi testove znanja i usmene ispite

Obveze studenta

Redovito pohađanje predavanja i vježbi
 Izvršavanje radnih zadataka
 Izrada i obrana seminarškog rada
 Polaganje testova znanja
 Polaganje usmenog ispita

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
Parcijalni ispit (P1)	20 %	< 60 % 60-70 % 71-80 % 81-90 % 91-100 %	Nedovoljan (1) Dovoljan (2) Dobar (3) Vrlo dobar (4) Izvrstan (5)	15	45	1,5
Parcijalni ispit (P2)	20 %	< 60 % 60-70 % 71-80 % 81-90 % 91-100 %	Nedovoljan (1) Dovoljan (2) Dobar (3) Vrlo dobar (4) Izvrstan (5)	15	45	1,5

Elementi praćenja	Maksimalno bodova ili udio u ocjeni	Bodovna skala ocjena	Ocjena	Broj sati izravne nastave	Ukupni broj sati rada prosječnog studenta	ECTS bodovi
Seminarski zadaci	5 %	< 60 % 60-70 % 71-80 % 81-90 % 91-100 %	Nedovoljan (1) Dovoljan (2) Dobar (3) Vrlo dobar (4) Izvrstan (5)	6	18	0,6
Usmeni ispit (UI)	55 %	< 60 % 60-70 % 71-80 % 81-90 % 91-100 %	Nedovoljan (1) Dovoljan (2) Dobar (3) Vrlo dobar (4) Izvrstan (5)	24	72	2,4
UKUPNO	100%			60	180	6

Elementi praćenja	Maksimalno bodova ili udio u ocjeni	Bodovna skala ocjena	Ocjena	Broj sati izravne nastave	Ukupni broj sati rada prosječnog studenta	ECTS bodovi
**Ispitni rok Pismeni ispit + Usmeni ispit (PI+ UI)	95 %	< 60 % 60-70 % 71-80 % 81-90 % 91-100 %	Nedovoljan (1) Dovoljan (2) Dobar (3) Vrlo dobar (4) Izvrstan (5)	54	172	5,4

Elementi praćenja	Opis	Rok	Nadoknada
Parcijalni ispit (P1)	Parcijalni ispit iz prvog dijela modula.	Tijekom semestra	Ispitni rokovi
Parcijalni ispit (P2)	Parcijalni ispit iz drugog dijela modula. Pravo pristupanja P2 imaju studenti koji su uspješno položili P1.	Tijekom semestra	Ispitni rokovi
Seminarski zadaci	Samostalno odrađeni seminarski zadaci iz područja primjene molekularnih metoda u istraživanju mikrobne raznolikosti.	Tijekom semestra	
Usmeni ispit (UI)	Usmeni ispit iz ukupnog gradiva u ispitnom roku za studente koji su uspješno položili P1 i P2.	Ispitni rok.	
**Ispitni rok Pismeni ispit + Usmeni ispit (PI+ UI)	Pismeni ispit za studente koji ne polože P1 i/ili P2. Pismeni i usmeni ispit uključuju cjelokupno gradivo.	Ispitni rok.	

Tjedni plan nastave

1. Uloga stanica u mikrobnjoj ekologiji. P- Uloga stanice u istraživanjima u mikrobnjoj ekologiji. Problemi vezani uz izolaciju mikroorganizama i uzgoj mikroorganizama u laboratoriju.
2. Izolacija DNA. P- Osnovni principi DNA izolacije iz tla, hrane i vode. L- Izolacija sveukupne DNA iz tla, izolacija genomske DNA iz čistih kultura mikroorganizama
3. Lančana reakcija polimerazom (PCR). P- Lančana reakcija polimerazom, osnovni principi umnažanja, varijacije osnovne PCR-tehnike. L- Primjena PCR-a.
4. Identifikacija autohtonih sojeva bakterija i kvasaca. P- Značaj proučavanja raznolikosti prirodnih populacija mikroorganizama iz tla te iz tradicionalnih prehrambenih proizvoda. Primjena autohtonih sojeva u biotehnologiji. L-Primjena PCR-a
5. Identifikacija autohtonih sojeva bakterija i kvasaca. P-Identifikacija bakterija na razini vrste i soja (16S rRNA gen, funkcionalni geni, PCR RAPD). Uvod u tehnike sekvenciranja. L- Analiza podataka.
6. Identifikacija autohtonih sojeva bakterija i kvasaca. P- Identifikacija kvasaca na razini vrste i soja (18S rRNA gen, ITS regija PCR RFLP, RAPD, rep- PCR). L- Primjena PCR-a.
7. Identifikacija autohtonih sojeva bakterija i kvasaca. L- Analiza obrazaca metoda otiska prsta i izrada dendrograma.
8. Određivanje raznolikosti i broja mikroorganizama iz različitih prirodnih sredina. P- Kvalitativne (DGGE, SSCP, T-RFLP) i kvantitativne (Real-Time PCR i MPN PCR) metode u istraživanju kompleksnih mikrobnih zajednica. L- Određivanje ukupnog broja bakterija u kompleksnom ekosustavu MPN PCR metodom.
9. Određivanje raznolikosti i broja mikroorganizama iz različitih prirodnih sredina. P- Metagenomika. Metagenetika. Analiza MPN PCR rezultata i usporedba Real-Time PCR i MPN PCR analize. L- AP-PCR u istraživanju mikrobne raznolikosti.
10. Genetičko kloniranje. P- Osnovni principi kloniranja i važnost za procjenu agrobioraznolikosti. L- Priprema PCR produkta za ligaciju u plazmidni vektor.
11. Genetičko kloniranje. L- Ligiranje u plazmidne vektore i unošenje željenih konstrukata u stanicu domaćina.
12. Analiza dobivenih klonova i inserata. L- Izolacija plazmidne DNA
13. Analiza dobivenih klonova i inserata. L- Razgradnja plazmidnih vektora restrikcijским endonukleazama i PCR dokazivanje inserata.
14. Analiza dobivenih klonova i inserata. P- Uvod u tehnike sekvenciranja. Analiza podataka uz korištenje različitih baza za pohranu sekvenci (NCBI i RDP)
15. Projektni zadatak. S- Studenti dobe konkretan problem iz područja mikrobne agroekologije i predlažu i argumentiraju metode koje će koristiti za njegovo rješavanje

Obvezna literatura

1. Metode u molekularnoj biologiji / Ambriović Ristov, Andreja; Brozović, Anamaria; Bruvo Mađarić, Branka; Četković, Helena; Herak Bosnar, Maja; Hranilović, Dubravka; Katušić Hećimović, Silva; Meštrović Radan, Nevenka; Mihaljević, Snježana; Slade, Neda; Vujaklija, Dušica (ur.). Zagreb : Institut Ruđer Bošković, 2007 (priručnik).
2. J. Sambrook, EF Fritsch and T Maniatis (1989): Molecular Cloning, a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press
3. Handbook of Molecular Microbial Ecology II: Metagenomics in Different Habitats (2011). Frans J. de Bruijn, (ed.), Wiley-Blackwell, John Wiley et, New Jersey



Preporučena literatura

1. Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology- 2nd ed (2007). Alexander Glazer and Hiroshi Nikaido (eds), Cambridge University Press, NY, USA
2. DH Gelfand and JJ Sninsky (1995): PCR Strategies (MA Innis, ed), Academic Press, San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto

Sličan predmet na srodnim sveučilištima

- Molecular biological methods in food analysis, BOKU
- Molecular Environmental Soil Science, College of agriculture and life sciences, NC State University
- Osnove metoda u molekularnoj biologiji i medicini, Sveučilišni poslijediplomski interdisciplinarni doktorski studij Molekularne bioznanosti Sveučilišta JJ Strossmayera u Osijeku, Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu i Sveučilišta u Dubrovniku