



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 mikrobnu 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 do izolacije plazmidne DNA. Također će se umnažati DNA metodom PCR u cilju identifikacije bakterijskih izolata do razine roda, vrste i soja. 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. Izolirana DNA iz tla će biti korištena za određivanje brojnosti bakterija u tlu Real-Time PCR metodom. Studentima će se teoretski objasniti principi sekvenciranja DNA i primjene „dubokog sekvenciranja“ (NGS sekvenciranje) u mikrobnj agroekologiji.

ECTS: 6.00Engleski jezik: **R1**E-učenje: **R1****Sati nastave: 60**

Predavanja: 30

Laboratorijske vježbe: 28

Seminar: 2

Izvođač predavanja

- [prof. dr. sc. Mirna Mrkonjić Fuka](#)
- [doc. dr. sc. Irina Tanuwidjaja](#)
- [doc. dr. sc. Ivana Rajnović](#)

Izvođač vježbi

- [doc. dr. sc. Irina Tanuwidjaja](#)
- [Valentina Odorčić, mag. ing. agr.](#)
- [doc. dr. sc. Ivana Rajnović](#)

Izvođač seminara

- [Valentina Odorčić, 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](#) (Obvezni 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 seminarskih radova

Organizirati i provoditi testove znanja i usmene ispite

Obveze studenta

Redovito pohađanje predavanja i vježbi

Izvršavanje radnih zadataka

Izrada i obrana seminarskog 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

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 (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
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 stanice u mikrobnj ekolojiji. P- Uloga stanice u istraživanjima u mikrobnj ekolojiji. Problemi vezani uz izolaciju mikroorganizama i uzgoj mikroorganizama u laboratoriju. S- usporedba klasičnih mikrobioloških metoda uzgoja i uzgoja u maniri visoke propusnosti
2. Razvoj metoda za istraživanje mikroorganizama. P- Fenotipske i kemotaksonomske metode u mikrobiologiji.
3. Biomarkeri P- DNA, RNA, proteini kao biomarkeri u mikrobiologiji.
4. Izolacija DNA. P- Organizacija genoma. Osnovni principi DNA izolacije iz čistih kultura, tla, hrane i vode. Određivanje količine i kvalitete DNA. Agarozna gel elektroforeza. L- Priprema biomase za izolacija DNA iz čistih kultura
5. Lančana reakcija polimerazom (PCR). P- Lančana reakcija polimerazom, osnovni principi umnažanja, varijacije osnovne PCR-tehnike. L-Izolacija DNA iz čistih kultura. Određivanje količine i kvalitete izolirane DNA
6. Identifikacija autohtonih sojeva bakterija. P-Identifikacija bakterija na razini roda, vrste i soja lančanom reakcijom polimeraze. L- Identifikacija bakterija do razine roda i vrste lančanom reakcijom polimeraze.
7. Identifikacija autohtonih sojeva bakterija. P- Uvod u tehnike sekvenciranja L- Agarozna gel elektroforeza PCR produkata. rep-PCR i identifikacija izolata do razine soja.
8. Identifikacija autohtonih sojeva bakterija L- Analiza obrazaca metoda otiska prsta i izrada dendrograma.
9. Određivanje raznolikosti i broja mikroorganizama iz različitih prirodnih sredina. P- Kvalitativne (DGGE, SSCP, T-RFLP itd.) metode u istraživanju kompleksnih mikrobnih zajednica. L- Izolacija DNA iz tla. Spektorfotometrijsko određivanje količine DNA.
10. Određivanje raznolikosti i broja mikroorganizama iz različitih prirodnih sredina. P- kvantitativne (Real-Time PCR i MPN PCR) metode. Analiza MPN PCR rezultata i usporedba Real-Time PCR i MPN PCR analize. L- Real-Time PCR na uzorcima tala- određivanje brojnosti bakterija u tlu.
11. Genetičko kloniranje. P- Osnovni principi kloniranja L- izolacija plazmida, PCR dokazivanje inserata.
12. Definicija bakterijske vrste u genomskoj eri P- izazovi definiranje vrste u mikrobiologiji. Transfer genetičkog materijala kod bakterija. Analiza podataka uz korištenje različitih baza za pohranu sekvenci (NCBI i RDP)
13. Opis novih bakterijskih vrsta P- Značaj opisivanja i klasificiranja novih bakterijskih vrsta. Metodologija i glavni koraci.
14. Opis novih bakterijskih vrsta L- Sekvence genoma zadanog izolata provesti kroz relevantne web servise kako bi ih se usporedilo sa srodnim vrstama te odredili specifičnost
15. Primijenjena istraživanja u mikrobnj agroekolojiji P- pregled istraživanja i korištenih molekularnih metoda u primijenjenoj mikrobiologiji u poljoprivredi. Interpretacija rezultata istraživanja.

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