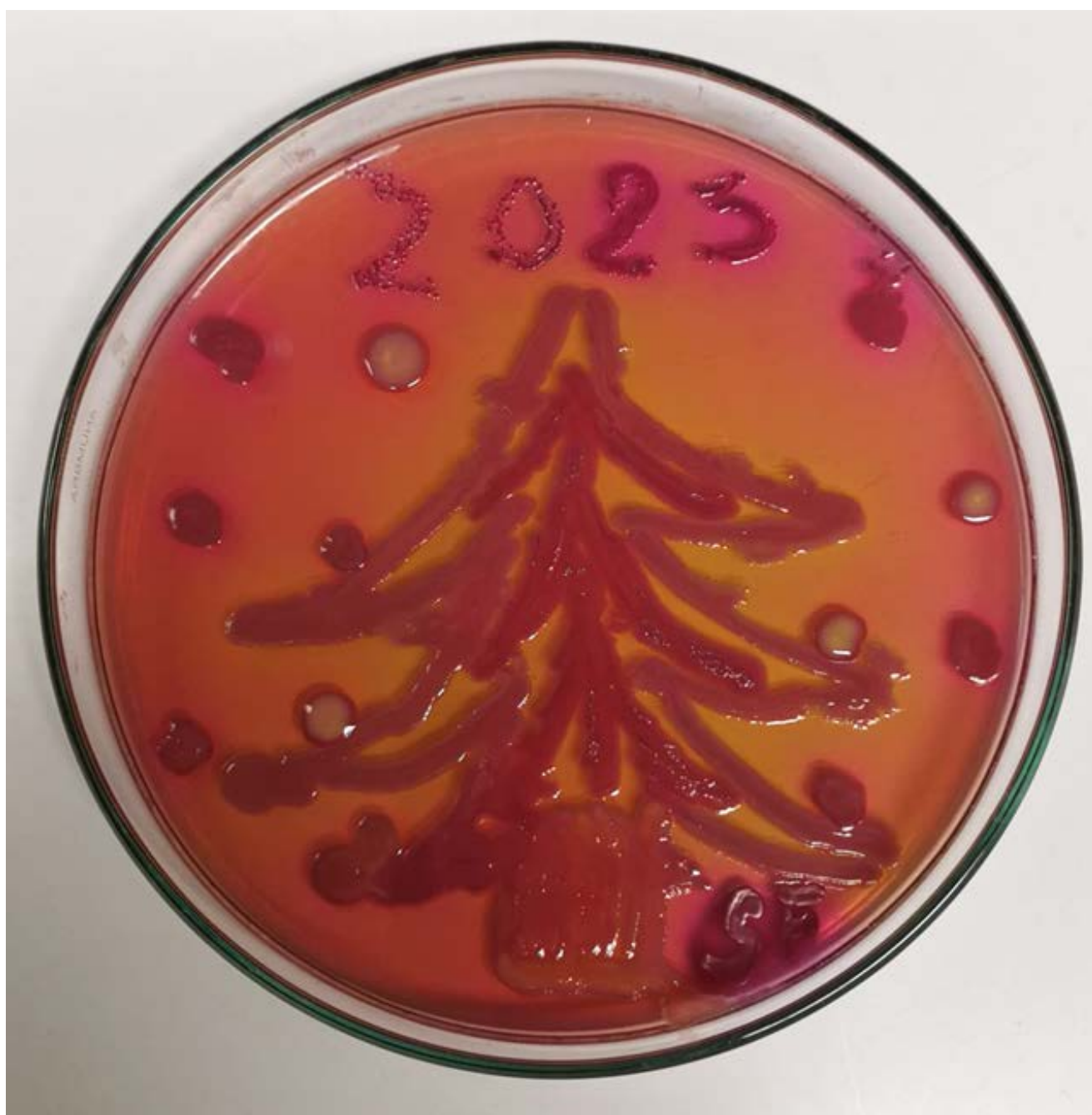


# MIKROBIOLOG.SI

---



Letnik 2, številka 3  
December 2022



Glasilo Slovenskega mikrobiološkega društva

**ISSN 2784-4463**

**Odgovorna urednica**

dr. Marjanca Starčič Erjavec

**Glavna urednica**

dr. Polonca Štefanič

**Uredniški odbor**

dr. Tomaž Accetto

dr. Darja Barlič Maganja

dr. Polona Kogovšek

dr. Urška Kuhar

dr. Hrvoje Petković

dr. Marjanca Starčič Erjavec

dr. Polonca Štefanič

dr. Valerija Tkalec

Rok Tomazin

**Lektoriranje**

Rok Dovjak

**Oblikovna zasnova**

dr. Polonca Štefanič

**Grafična priprava**

Anja Erbežnik

**Revija je brezplačna in izhaja 3 x letno**

**Spletna revija** se nahaja v obliki pdf dokumenta na spletni strani SMD:

[www.smd.si](http://www.smd.si)

Brez pisnega dovoljenja izdajatelja so prepovedani reproduciranje, distribuiranje, javna objava, predelava ali druga uporaba tega avtorskega dela ali njegovih delov v kakršnemkoli obsegu ali postopku.

**Prispevke pošiljajte na naslov**

[polonca.stefanic@bf.uni-lj.si](mailto:polonca.stefanic@bf.uni-lj.si)

**Naslovnica**

*Enterobakterije (agar VRBG).*

*Avtorica: Sabina Fijan.*

Ljudje v svetu mikrobiologije

*Mladi mikrobiologi se predstavijo*

Katja Hrovat

3

*Molekularna karakterizacija bakterij Escherichia coli, ki proizvajajo  $\beta$ -laktamaze z razširjenim spektrom delovanja in so bile izolirane iz kužnin spodnjih dihalnih poti.*

Mojca Krajnc

5

*Sistemski pogled na razvoj pelikla pri bakteriji Bacillus subtilis*

Anja Pavlin

7

*Mali protein bakteriofaga GIL01 vzpostavi hierarhijo nad bakteriofagom pBtic235 in vpliva na transkriptom svojega gostitelja*

Vita Rozman

9

*Razširjenost odpornosti proti protimikrobnim zdravilom pri bakterijah, namerno dodanih v agroživilsko verigo*

Eli Podnar

*Vpliv hranil in polisaharidov bakterije Bacillus subtilis na*

11

*antagonizem proti bakteriji Salmonella Typhimurium v biofilmu*

Meta Sterniša

13

*Bakterije rodu Pseudomonas – ali res povzročajo samo kvar?*

**Strokovni članek**

15

*Kapucinka (Tropaeolum majul L.) – obetaven vir protiglavnih učinkovin*  
 Ramič D., Vrca I., Bilušić T., Smole Možina S.

**Mikrobiološki dogodki**

*Poletna šola bioinformatike 2022: Primerjalna genomika in metagenomika - Polonca Štefanič*

21

**Iskrice v svetu mikrobiologije**

Mikropesem

25

Mikrobiologija v sliki


27

*Pred vami je tretja številka drugega letnika glasila Slovenskega mikrobiološkega društva Mikrobiolog.si, glasila, katerega namen je, da mikrobiologi drug drugemu predstavimo in približamo svoje delo.*

*V tej številki objavljamo prispevke mladih mikrobiologov, ki so jih pripravili za dogodek Mladi mikrobiologi se predstavijo, organiziran 15. junija 2022 na daljavo. Zasedili pa boste lahko tudi zelo zanimiv strokovni članek o kapucinki (*Tropaeolum majus* L.) kot obetavnem viru protiglivnih učinkovin. V rubriki Mikrobiološki dogodek si lahko preberete povzetek dogajanja na Poletni šoli bioinformatike 2022, ki jo je naše društvo sponzorsko podprlo in je potekala od 25. do 29. 7. 2022 v Biološkem središču. Seveda smo za vas pripravili tudi Iskrice in pa pesem prof. Rasporja.*

*V upanju, da si boste z veseljem prebrali to številko in tudi prispevali za naslednjo, vas prav lepo pozdravljam in vam želim mikrobiološko uspešno 2023.*

VTB



**Želimo vam  
vesele in prijetne praznike  
ter za novo leto 2023  
ambiciozne cilje,  
bogate izkušnje,  
in izjemne dosežke!**

*Slovensko mikrobiološko društvo*



Ljudje v svetu mikrobiologije

## ***Mladi mikrobiologi se predstavijo***

Katja Hrovat<sup>1</sup>

Molekularna karakterizacija bakterij *Escherichia coli*, ki proizvajajo  $\beta$ -laktamaze z razširjenim spektrom delovanja in so bile izolirane iz kužnin spodnjih dihalnih poti.

Mentorica: Jerneja Ambrožič Avguštin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

katja.hrovat@bf.uni-lj.si

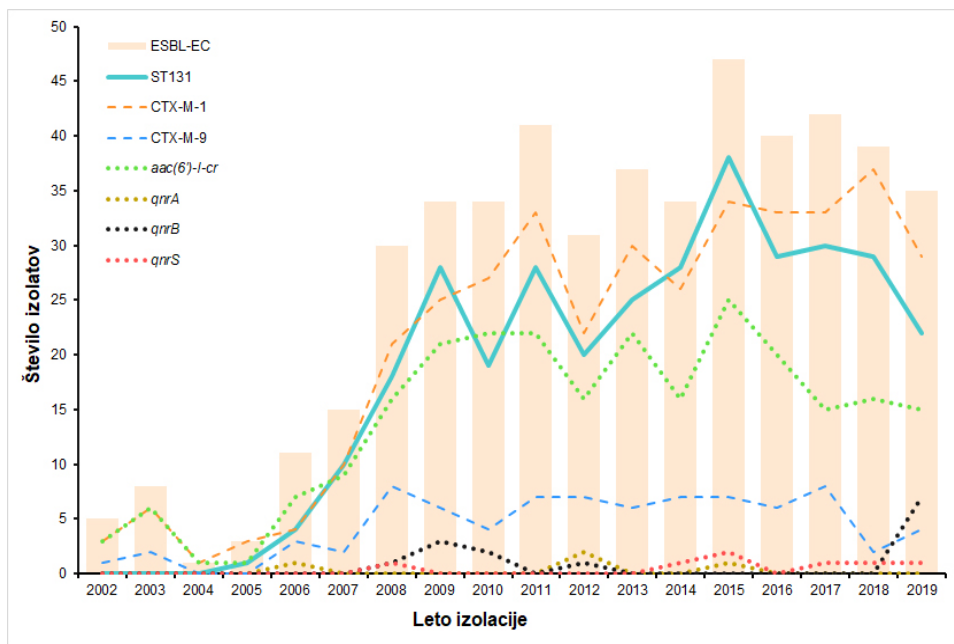
Bakterija *Escherichia coli* je običajno komenzal v prebavnem traktu človeka, hkrati pa zaradi različnih genov za dejavnike virulence lahko povzroča številna črevesna in zunajčrevesna obolenja.

Osrednji cilj naše raziskave je bil oceniti razširjenost in molekularne značilnosti bakterij *E. coli* (ESBL-EC), ki proizvajajo  $\beta$ -laktamaze z razširjenim spektrom delovanja in so bile v 18-letnem obdobju izolirane iz vzorcev spodnjih dihal v izbranih slovenskih bolnišnicah. Prevalenca ESBL-EC med vsemi izolati dihalnega trakta je bila povezana z naraščajočim številom po vsem svetu razširjene klonalne skupine ST131, ki je predstavljala kar 67,6 % od 487 izbranih izolatov, vključenih v študijo. Delež izolatov, ki proizvajajo encime

»Z uporabo metode za ugotavljanje klonalne raznovrstnosti ERIC-PCR smo izolate z enakim ERIC-profilom potrdili pri različnih bolnikih, lokacijah in obdobjih vzorčenja, kar kaže na potencialno »bolnišnično udomačene« izolate.«

ESBL, je bil leta 2005 majhen (1,4 %) ter se je do leta 2019 povečal na 12,6 %. Z uporabo metode za ugotavljanje klonalne raznovrstnosti ERIC-PCR smo izolate z enakim ERIC-profilom potrdili pri različnih bolnikih, lokacijah in obdobjih vzorčenja, kar kaže na potencialno »bolnišnično udomačene« izolate. Prevladujoča filogenetska skupina izolatov je bila B2 (73,1 %), sledile pa so skupine A (7 %), D (6,4 %), C (5,7 %), F (4,9 %), B1 (2,3 %) in E (0,6 %). Izolati iz skupine ST131 so imeli povprečno večje število genov za dejavnike virulence kot drugi, hkrati pa je bil nabor genov, povezanih z virulenco, pri skupini ST131 skladen z naborom genov drugih zunajčrevesnih

patogenih sevov *E. coli*. Sekvenčna skupina ST131 je bila statistično značilno povezana z desetimi od šestnajstih testiranih genov za dejavnike virulence, vključno z adhezini (*afa/dra*, *fimH*, *iha*), avtotransporterji (*fluA*, *sat*), sistemi za pridobivanje železa (*fyuA*, *iutA*) in protektini (*kpsMTII*, *traT*). Med geni, povezanimi z odpornostjo proti antibiotikom, smo zaznali velik delež *bla<sub>CTX-M-1</sub>* (77,4 %) in *aac(6')-I-cr* (52 %) ter majhne deleže genov *bla<sub>SHV</sub>* in *qnr*. Ta raziskava nam je dala vpogled v prisotnost genov, povezanih z odpornostjo in patogenezo izolatov iz spodnjih dihal, in dinamiko njihovega pojavljanja.



**Preglednica 1:** Število izolatov z zapisi za β-laktamaze iz skupine CTX-M ali s plazmidno posredovanimi zapisi za odpornost proti kinolonom (PMQR) ter število izolatov iz sekvenčne skupine ST131 med bakterijami ESBL-EC iz spodnjih dihal med letoma 2002–2019. Črtkane črte prikazujejo prevalenco genov *bla<sub>CTX-M</sub>* iz skupine 1 in 9, pikčaste črte pa prevalenco genov PMQR.

Ljudje v svetu mikrobiologije

## ***Mladi mikrobiologi se predstavijo***

Mojca Krajnc<sup>1</sup>

### Sistemski pogled na razvoj pelikla pri bakteriji *Bacillus subtilis*

Mentor: prof. dr. David Stopar<sup>1</sup>

Somentorica: doc. dr. Polonca Štefanič<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra za mikrobno ekologijo in fiziologijo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

mojca.krajnc@bf.uni-lj.si

*Bacillus subtilis* je eden najboljših modelnih sistemov za proučevanje tvorbe biofilma. Čeprav lahko *B. subtilis* tvori biofilme na skoraj kateri koli površini, se večina študij osredotoča na tvorbo biofilma na trdnih substratih.

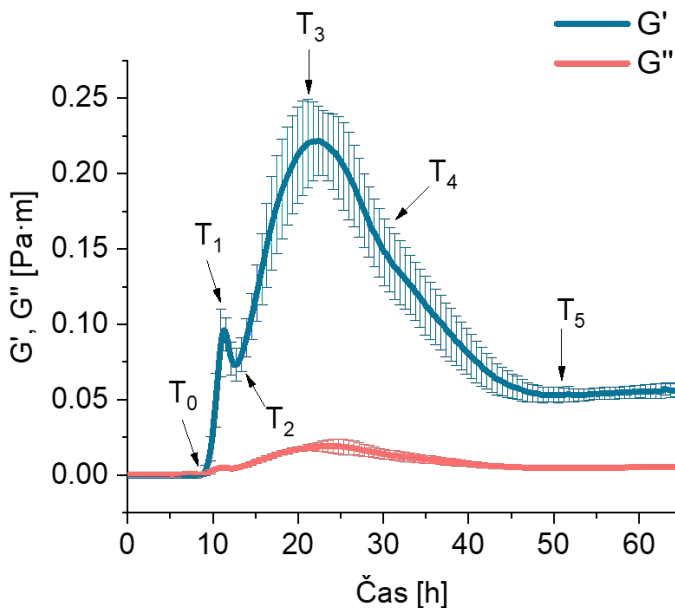
Veliko manj je znanega o biofilmih *B. subtilis*, ki se tvorijo na fazni meji med tekočino in zrakom (t. i. peliklih) in jih običajno opazimo v nestresanih šaržnih sistemih. Poleg tega večina študij ne upošteva bakterijske aktivnosti v tekoči fazi, čeprav lahko predstavlja pomemben del celotne bakterijske populacije v sistemu. To spodbuja k razvoju holističnega pristopa, pri katerem se tvorba peliklov proučuje *in situ* skupaj z dogajanjem v tekoči fazi. To idejo smo implementirali v naši študiji, pri kateri smo spremljali razvoj peliklov *B. subtilis* PS-216 z uporabo

»To idejo smo implementirali v naši študiji, pri kateri smo spremljali razvoj peliklov *B. subtilis* PS-216 z uporabo interfazne reologije in konfokalne fluorescenčne mikroskopije v realnem času.«

interfazne reologije in konfokalne

fluorescenčne mikroskopije v realnem času. Z uporabo teh dveh tehnik smo povezali morfološke spremembe z mehanskimi lastnostmi rastočega pelikla. Edinstven sistemski pogled na razvoj peliklov nam je omogočil povezovanje dogodkov na fazni meji tekočina-zrak z vertikalno porazdelitvijo in sposobnostjo preživetja posameznih bakterijskih celic v vodnem stolpcu. Naš pristop smo razširili na mutirane seve, ki niso proizvajali eksopolimernih snovi. Pri tvorbi pelikla smo zaznali šest ključnih dogodkov, pri katerih je prišlo do velike spremembe v viskoelastičnem in morfološkem obnašanju nastalega

pelikla. Rezultati kažejo, da je tvorba peliklov večplasten odziv na spreminjajoče se okolje, povzročen zaradi rasti bakterij. Posledično se spremeni distribucija populacije znotraj sistema, omejitev življenjskega habitata na interfazu tekočina-zrak, spremembe v razvoju in morfogenezi celic ter nastajanje mehanske konstrukcije, ki lahko vzdrži mehanski stres. Konec življenjskega cikla pelikla zaznamuje njegova povečana občutljivost za mehanske obremenitve, kar se kaže kot propad pelikla in proces sproščanja spor, ta pa povzroči prehod sistema v stanje mirovanja.



**Slika 1:** Mehanske lastnosti nastajajočega pelikla. Viskoelastične lastnosti (elastični ( $G'$ ) in viskozni modul ( $G''$ )) med nastankom in zorenjem pelikla seva *B. subtilis* PS-216 na fazni meji med tekočino in zrakom v mediju MSgg. Rezultati so predstavljeni kot povprečje  $\pm$  standardna deviacija 6 neodvisnih bioloških meritev.  $T_0$ – $T_5$  označujejo ključne dogodke v viskoelastičnem obnašanju med nastankom pelikla.  $T_0$  predstavlja začetno izrazito povečanje elastičnega modula,  $T_1$  je lokalni maksimum,  $T_2$  lokalni minimum,  $T_3$  globalni maksimum,  $T_4$  prevojna točka,  $T_5$  pa predstavlja vrednosti elastičnega in viskoznega modula po razpadu pelikla. Viskoelastične krivulje so bile pridobljene z medfazno reologijo z bikonusnim merilnim sistemom.

Ljudje v svetu mikrobiologije

## ***Mladi mikrobiologi se predstavijo***

Anja Pavlin<sup>1</sup>

Mali protein bakteriofaga GIL01 vzpostavi hierarhijo nad bakteriofagom pBtic235 in vpliva na transkriptom svojega gostitelja

Mentor: izr. prof. dr. Matej Butala<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

anja.pavlin@bf.uni-lj.si

Bakterija *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* je po Gramu pozitivna bakterija, ki se pogosto uporablja kot biopesticid v kmetijstvu in tudi kot sredstvo za zatiranje komarjev, vektorjev človeških bolezni.

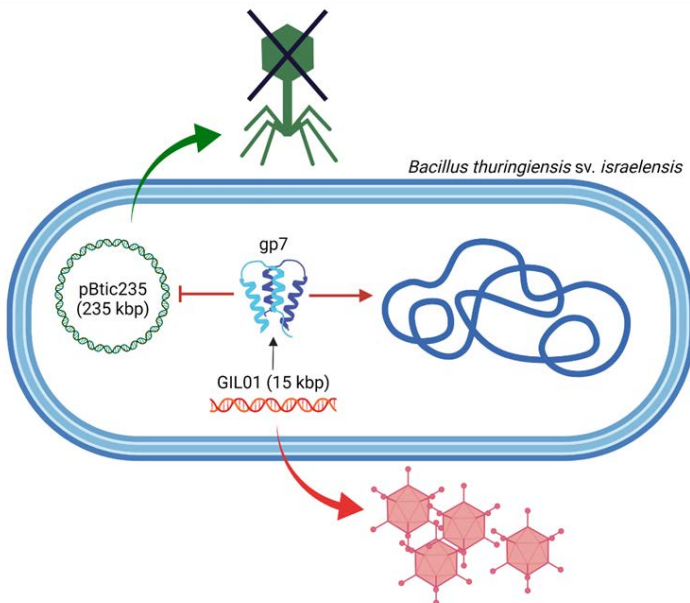
Sevi te bakterije vsebujejo številne zunajkromosomske molekule DNA, med drugim tudi genoma dveh bakteriofagov: 15 kbp velik profag GIL01 uvrščamo v virusno družino *Tectiviridae*, drugi, 235 kbp velik profag pBtic235 pa je slabo okarakteriziran. Oba sta temperirana bakteriofaga, pri čemer aktivacijo litičnega cikla sprožijo poškodbe DNA. V nasprotju z večino drugih temperiranih bakteriofagov, ki uporabljajo lastni transkripcijski represor za vzpostavitev in vzdrževanje lizogenega cikla, GIL01 izkorišča bakterijski transkripcijski

»V nasprotju z večino drugih temperiranih bakteriofagov, ki uporabljajo lastni transkripcijski represor za vzpostavitev in vzdrževanje lizogenega cikla, GIL01 izkorišča bakterijski transkripcijski faktor LexA, pri čemer pa je nujen tudi mali protein *gp7* profaga GIL01.«



»Z analizami transkriptoma smo pokazali, da je mali protein gp7 bakteriofaga GIL01 globalni regulator transkripcije, ki znatno vpliva na transkriptom svojega gostitelja, poleg tega pa po poškodbi DNA zavira indukcijo litičnega cikla profaga pBtic235. Dokazali smo, da profag GIL01 utiša prepis genov in sintezo virionov profaga pBtic235.«

faktor LexA, pri čemer pa je nujen tudi mali protein gp7 profaga GIL01. Protein gp7 neposredno interagira s proteinom LexA in tvori kompleks, ki ima večjo afiniteto do operatorjev LexA kot sam LexA. Z analizami transkriptoma smo pokazali, da je mali protein gp7 bakteriofaga GIL01 globalni regulator transkripcije, ki znatno vpliva na transkriptom svojega gostitelja, poleg tega pa po poškodbi DNA zavira indukcijo litičnega cikla profaga pBtic235. Dokazali smo, da profag GIL01 utiša prepis genov in sintezo virionov profaga pBtic235. Pokazali smo, da homologji proteina gp7, ki jih najdemo med bakteriofagi virusne družine *Tectiviridae*, delujejo na podoben način kot gp7, torej ojačajo vezavo LexA na DNA, in verjamemo, da vplivajo tudi na ekspresijo genov gostitelja.



**Slika 1:** Mali protein gp7 bakteriofaga GIL01 je globalni regulator transkripcije, ki znatno vpliva na transkriptom svojega gostitelja in inhibira indukcijo litičnega cikla sobivajočega faga pBtic235.

Ljudje v svetu mikrobiologije

## ***Mladi mikrobiologi se predstavijo***

Vita Rozman<sup>1</sup>

### Razširjenost                    odpornosti                    proti protimikrobnim zdravilom pri bakterijah, namerno dodanih v agroživilsko verigo

Mentor: znan. svet. dr. Bojana Bogovič Matijašič<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inštitut za mlekarstvo in probiotike, Oddelek za zootehniko,  
Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

vita.rozman@bf.uni-lj.si

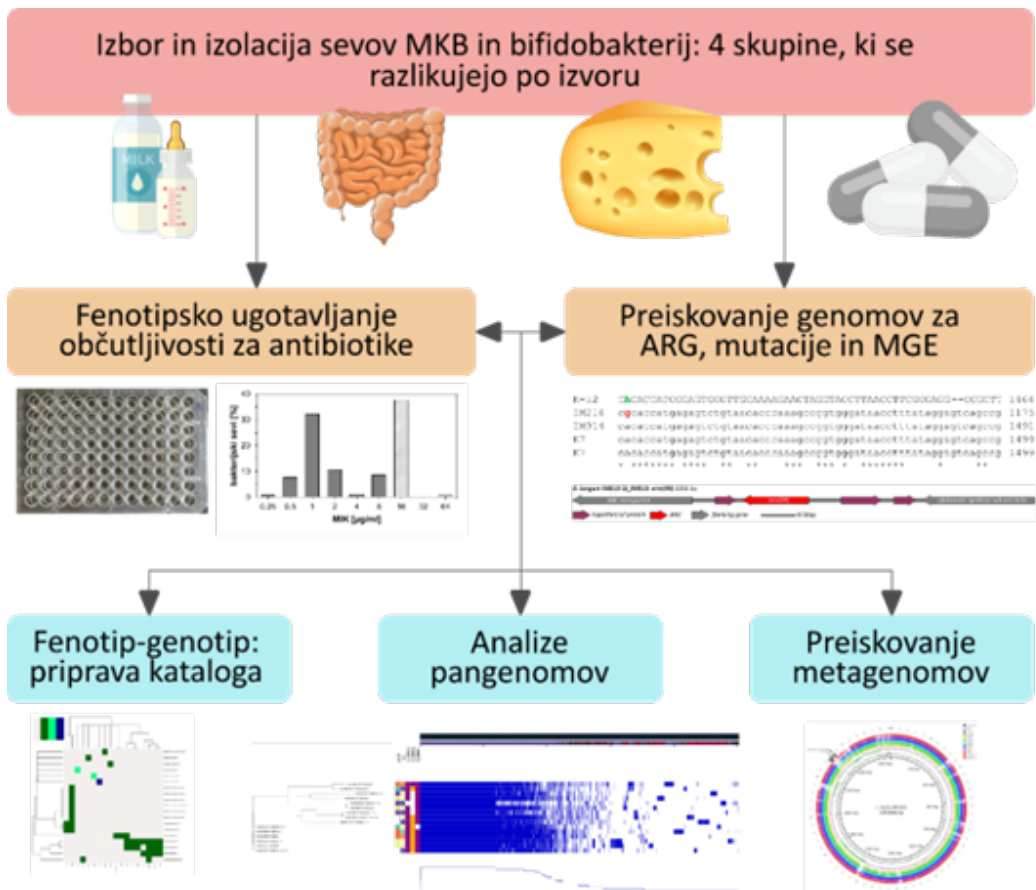
Protimikrobna zdravila so temelj moderne medicine, obenem pa njihovo učinkovitost ogroža naglo širjenje odpornosti. Tudi mlečnokislinske bakterije (MKB) in bifidobakterije so bile prepoznane kot rezervoar genov za odpornost (ARG), vendar dejansko tveganje pri sevih, ki jih dodajamo v agroživilsko verigo (SZPK), še ni raziskano. Na to vprašanje smo skušali odgovoriti v naši raziskavi.

V analize smo vključili štiri skupine MKB in bifidobakterij – poleg sevov iz starterskih kultur ali prehranskih dopolnil z živimi bakterijami (probiotikov) tudi izolate iz humanega mleka ali kolostruma, iz črevesne sluznice ali blata ter iz fermentiranih živil. Fenotipsko občutljivost smo z mikrodilucijo ugotavljali pri 474 sevih in pokazali, da je odpornost pogostejša pri črevesnih izolatih. ARG in mobilne elemente (MGE) smo s primerjalno genomiko proučevali pri celotnih

genomih 1114 sevov. Ugotovili smo, da je 13,8 % sevov skupine SZPK vsebovalo pridobljene ARG, pri čemer so prevladovali tisti za tetraciklin, pogosto pa smo našli tudi mutacije. 75,5% pridobljenih ARG smo povezali z MGE, katerih potencial za širjenje *in vivo* smo ovrednotili s preiskovanjem metagenomskih zaporedij. Ocenjujemo, da skupina sevov SZPK ne predstavlja pomembnega tveganja za širjenje odpornosti, saj so pridobljeni ARG in MGE pri teh sevih manj pogosti

kot pri skupini humane črevesne sluznice/blata, vendar je pozornost treba nameniti predvsem posameznim probiotičnim sevom, ki vsebujejo elemente, za katere smo pokazali, da

imajo potencial za širjenje med črevesno mikrobioto. Ti elementi so redkejši pri izolatih naravne mikrobiote iz fermentiranih živil in neznačilni za starterske kulture.



**Slika 1:** Potek eksperimentalnega in bioinformacijskega dela analize razširjenosti odpornosti proti protimikrobnim zdravilom pri bakterijah, namerno dodanih v agroživilsko verigo. V analize smo vključili seve mlečnokislinskih bakterij (MKB) in bifidobakterij iz starterskih, zaščitnih in probiotičnih kultur ali krmnih dodatkov, izolate naravne mikrobiote iz fermentiranih živil in izolate iz humanih bioloških vzorcev (črevesna sluznica, blato, mleko in kolostrum). Legenda: ARG – geni za odpornost proti antibiotikom; MGE – mobilni genetski elementi.

Ljudje v svetu mikrobiologije

## ***Mladi mikrobiologi se predstavijo***

Eli Podnar<sup>1</sup>

Vpliv hranil in polisaharidov bakterije *Bacillus subtilis* na antagonizem proti bakteriji *Salmonella Typhimurium* v biofilmu

Mentor: prof. dr. Ines Mandić-Mulec<sup>1</sup>

Somentor: doc. dr. Tjaša Danevčič<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra za mikrobno ekologijo in fiziologijo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

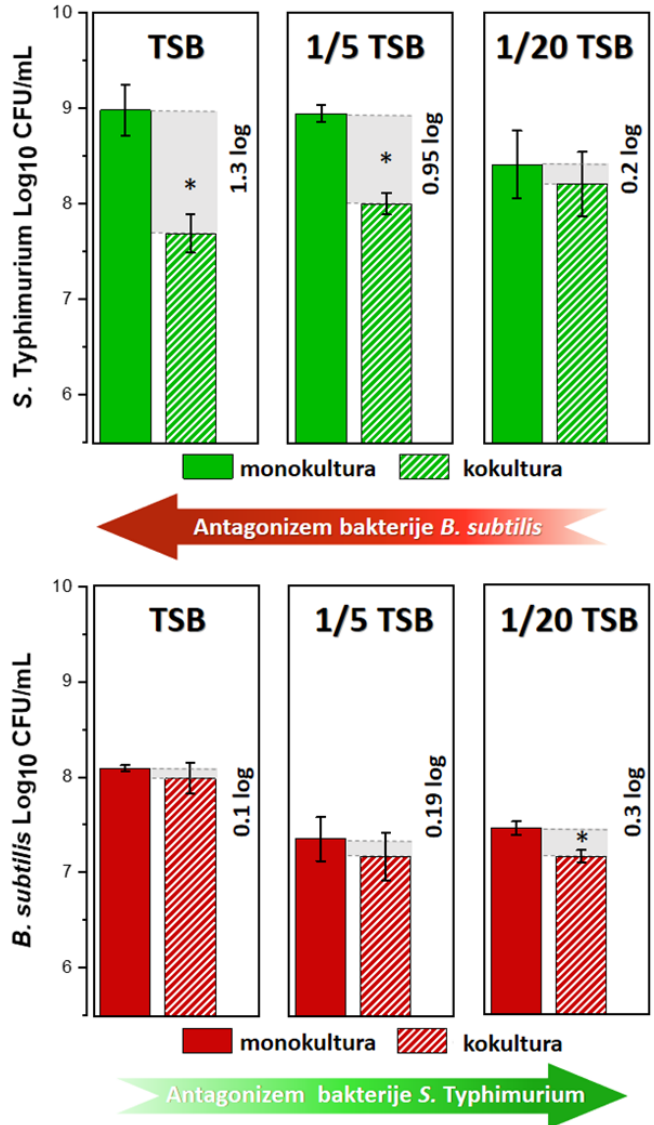
eli.podnar@bf.uni-lj.si

Bakterija *Salmonella enterica* je eden najpogostejših patogenov pri ljudeh in živalih, ki se prenaša s hrano. Zaradi širjenja odpornosti proti antibiotikom iz skupine kinolonov/fluorokinolonov pri tej bakteriji so potrebne nove strategije za njihovo omejevanje.

Eden od pristopov bi lahko vključeval antagonistično delovanje bakterije *Bacillus subtilis*. Raziskave, ki obravnavajo interakcije med bakterijama *B. subtilis* in *Salmonella enterica* so narejene večinoma na piščancih. Čeprav so tovrstne raziskave bistvene za razvoj probiotikov, ne obravnavajo molekularnih

mehanizmov, ki usmerjajo interakcije med patogenimi in probiotičnimi bakterijami. V naši raziskavi smo testirali vpliv probiotičnega kandidata seva *B. subtilis* PS-216 na rast in razvoj biofilma bakterije *S. Typhimurium* SL1344. Bakterije iz rodu *Salmonella* so močno razširjene in so lahko prisotne tudi v okoljih zunaj gostitelja, ki so revna s hranili. Zaradi tega smo

obravnavali interakcije med patogenimi bakterijami in probiotičnimi bakterijami tudi pri različnih koncentracijah hranil. Rezultati kažejo, da bakterija *B. subtilis* PS-216 zavira rast in adhezijo salmonеле na površino polistirena ter zmanjša debelino njenega biofilma. Antagonistični potencial bakterije *B. subtilis* se močno zniža ob omejenih hranilih in mutanti z neaktivnim operonom *pks*, ki nosi zapis za sintezo sekundarnega metabolita bacilena in na izbrano bakterijo *S. Typhimurium* deluje protimikrobno. Poleg tega je prisotnost bakterije *S. Typhimurium* v nestresani kokulturi *in vitro* sprožila aktivacijo promotora  $P_{pksC}$  bakterije *B. subtilis*, odgovornega za sintezo bacilena, kar kaže, da bakterija *B. subtilis* zaznava in se odziva na po Gramu negativnega kompetitorja. Izgubo antagonističnega učinka pri bakteriji *B. subtilis* v razmerah, ko so bila hranila limitna, lahko deloma pripišemo polisaharidom zunajceličnega matriksa. V raziskavi smo pokazali, da bi bil sev *B. subtilis* PS-216 lahko primeren probiotični kandidat pri okužbah s *S. Typhimurium* in da na njegovo delovanje vplivata tudi razpoložljivost hranil in sestava zunajceličnega matriksa biofilma bakterije *B. subtilis*.



**Slika 1:** Vpliv hranil na število celic bakterij *B. subtilis* PS-216 in *S. Typhimurium* SL1344. Bakterije smo gojili v gojiščih TSB, 1/5 TSB in 1/20 TSB in določili število kolonijskih enot (CFU/mL) po 24 urah inkubacije pri 37 °C. Podatki predstavljajo povprečja treh bioloških ponovitev s standardnim odklonom. Statistično značilni rezultati so bili določeni s Studentovim t-testom ( $p < 0,05$ ) in so označeni z \*.

Ljudje v svetu mikrobiologije

## *Mladi mikrobiologi se predstavijo*

Meta Sterniša<sup>1</sup>

Bakterije rodu *Pseudomonas* – ali res povzročajo samo kvar?

Del doktorske disertacije z naslovom: Možnosti zmanjšanja mikrobiološke kontaminacije mesa navadnega krapa (*Cyprinus carpio*)

Mentor: prof. dr. Sonja Smole Možina<sup>1</sup>

Somentor:izr. prof. dr. Jan Mraz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Oddelek za živilstvo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

<sup>2</sup> University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Fisheries and Protection of Waters, Institute of Aquaculture and Protection of Waters

meta.sternisa@bf.uni-lj.si

Kvar živil je veliko ekonomsko breme za živilsko industrijo. K temu, poleg samega ravnanja z živilom, izrazito prispeva mikrobiološka kontaminacija. Med mikroorganizmi, ki povzročajo kvar živil, so bakterije *Pseudomonas* med najbolj razširjenimi. Zaradi raznovrstne metabolne aktivnosti te bakterije lahko povzročijo kvar živil tako živalskega kot tudi rastlinskega izvora, in sicer z različnimi encimi in tvorbo pigmentov – kar vse vodi k spremembi senzoričnih lastnosti živil. Te lastnosti so bolj izrazite pri biofilmu bakterij *Pseudomonas* kot pri njihovi

» Pokazali smo, da dvig temperature hlajenja oz. prekinjena hladna veriga izrazito poveča encimsko aktivnost bakterij *Pseudomonas* in tako verjetno še pospeši kvar živil. «

planktonski obliki ter so hkrati odvisne od temperature okolja. Pokazali smo, da dvig temperature hlajenja oz. prekinjena hladna veriga izrazito poveča encimsko aktivnost bakterij *Pseudomonas* in tako verjetno še pospeši kvar živil. Toda ali ti encimi res povzročajo le kvar živil? Razgradnja posameznih hranil s hidrolitičnimi encimi bakterij *Pseudomonas* lahko vodi v nastanek za potrošnika toksičnih produktov in zagotavlja hranila še za druge prisotne bakterije – tudi potencialno patogene. Hkrati lahko biofilm bakterij *Pseudomonas* zaščiti manj odporne bakterije v živilski industriji, jim omogoči boljše preživetje in nadaljnjo kontaminacijo. Tako imajo bakterije *Pseudomonas* pomembno

vlogo pri interakciji z drugimi mikroorganizmi v okoljih, povezanih s hrano. Nadzor bakterij *Pseudomonas* je pomemben ne le z vidika upočasnjevanja kvara, temveč tudi za nadzor potencialno patogenih bakterij. Poleg posredne nevarnosti za potrošnike bakterije *Pseudomonas* pomenijo tudi neposredno tveganje za zdravje, saj smo pokazali, da sevi bakterij *Pseudomonas* iz pokvarjenega ribjega mesa lahko rastejo pri 37 °C in tvorijo virulentne dejavnike. Zato so potrebne nadaljnje bazične raziskave za razumevanje razsežnosti negativnih vplivov bakterij *Pseudomonas*, ki primarno povzročajo kvar živil, na zdravje ljudi.



Slika 1: Rast bakterij *Pseudomonas* (od leve proti desni) na trdnem gojišču s kongo rdečim, na poltrdnem gojišču za določanje gibljivosti in na trdnem gojišču King B.

## Strokovni članek

# Kapucinka (*Tropaneolium majus* L.) – obetaven vir protiglivnih učinkovin

Dina Ramić<sup>1</sup>, Ivana Vrca<sup>2</sup>, Tea Bilušić<sup>2</sup>, Sonja Smole  
Možina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oddelek za živilstvo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva  
101, 1000 Ljubljana, Slovenija

<sup>2</sup>Zavod za prehrabenu tehnologiju i biotehnologiju, Kemijsko-tehnološki  
fakultet, Sveučilište u Splitu, Ruđera Boškovića 35, 21000 Split, Hrvatska

sonja.smole-mozina@bf.uni-lj.si

**Ključne besede:** *Aspergillus flavus*, kapucinka, protiglivni učinek

Kontaminacija s plesnimi je ena od pogostih težav v živilski verigi od polja do mize. Plesni povzročajo bolezni kmetijskih pridelkov in kvarjenje hrane, njihovi mikotoksini so škodljivi za zdravje ljudi in živali. Spore plesni so prisotne povsod v naravi, omogočajo preživetje v različnih stresnih razmerah, hitro širjenje in rast plesni na različnih substratih (1).

Ena izmed najbolj razširjenih in problematičnih plesni v živilski verigi je saprofitna plesen *Aspergillus flavus*, ki kontaminira številne kmetijske pridelke, kot so arašidi ali koruza, pa tudi mlečni izdelki, in lahko tvori aflatoksine; ti so sicer v mleku lahko prisotni že zaradi uporabe plesnive krme (2, 3). Mednarodna organizacija za raziskave raka (angl. International Agency for Research on Cancer) je aflatoksine uvrstila v karcinogene toksine skupine 1. Ocenjeno je, da aflatoksini povzročajo kar 28 % hepatocelularnih karcinomov,

najpogostejše oblike karcinoma jeter na svetu (4). Ljudje in živali se s plesnijo *A. flavus* okužijo z uživanjem kontaminirane hrane in krme ali vdihavanjem spor, kar lahko povzroči aspergilozo (zaradi rasti plesni). Aflatoksikoza pa je zastrupitev zaradi prisotnosti aflatoksinov. Obe bolezenski stanji sta lahko usodni, predvsem za imunsko oslABLJENE bolnike (2). Vsesplošen problem je naraščajoča odpornost proti protiglivnim zdravilom, kot tudi počasen razvoj novih, sprejemljivih zdravil in fungicidov. Poleg tega se predpisi o

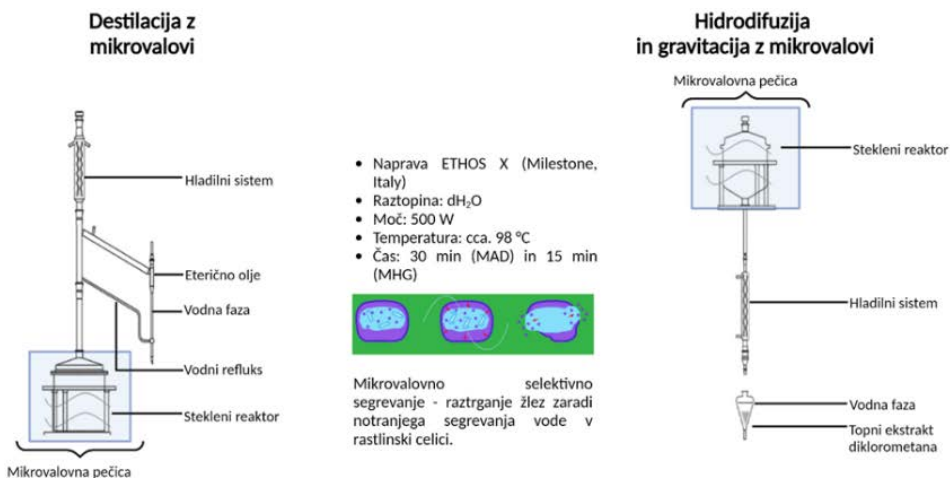


» Ekstrakcijske tehnike, kot sta destilacija z mikrovalovi (angl. Microwave-Assisted Distillation, MAD) ter hidrodifuzija in gravitacija z mikrovalovi (Microwave Hydrodiffusion and Gravity, MHG), so odlična alternativa običajnim načinom ekstrakcije za pridobivanje pripravkov, bogatih s hlapnimi spojinami.«

sestavi tradicionalnih kemičnih fungicidnih sredstev zastrujejo, ljudje pa so do njihove uporabe kljub temu vse bolj zadržani. To povečuje zanimanje za sprejemljive naravne izdelke s terapevtskim potencialom (5). Zne rastline s protimikrobnim delovanjem so v družini *Tropaeolaceae*, med katerimi izstopa vrsta *Tropaeolum majus* L., znana kot kapucinka. Kapucinka se v tradicionalni medicini uporablja kot fitofarmacevtsko sredstvo za

Poleg novih protimikrobnih sredstev se razvijajo tudi nove, okolju prijaznejše metode ekstrakcije rastlinskih snovi. Ekstrakcijske tehnike, kot sta destilacija z mikrovalovi (angl. Microwave-Assisted Distillation, MAD) ter hidrodifuzija in gravitacija z mikrovalovi (Microwave Hydrodiffusion and Gravity, MHG), so odlična alternativa običajnim načinom ekstrakcije za pridobivanje pripravkov, bogatih s hlapnimi spojinami. Nove tehnike so veliko

Slika 1: Schema destilacije z mikrovalovi (MAD) in hidrodifuzije in gravitacije z mikrovalovi (MHG).



zdravljenje različnih bolezenskih stanj, kot so bronhitis, sinusitis, astma, tuberkuloza in celo rak (6). Semena kapucinke so bogata z maščobnimi kislinami, flavonoidi, kukurbitini in glukozinolati. Med njimi so najbolj zanimivi glukozinolati oz. njihovi razpadni produkti izotiocianati, saj imajo odličen protimikroben učinek (7).

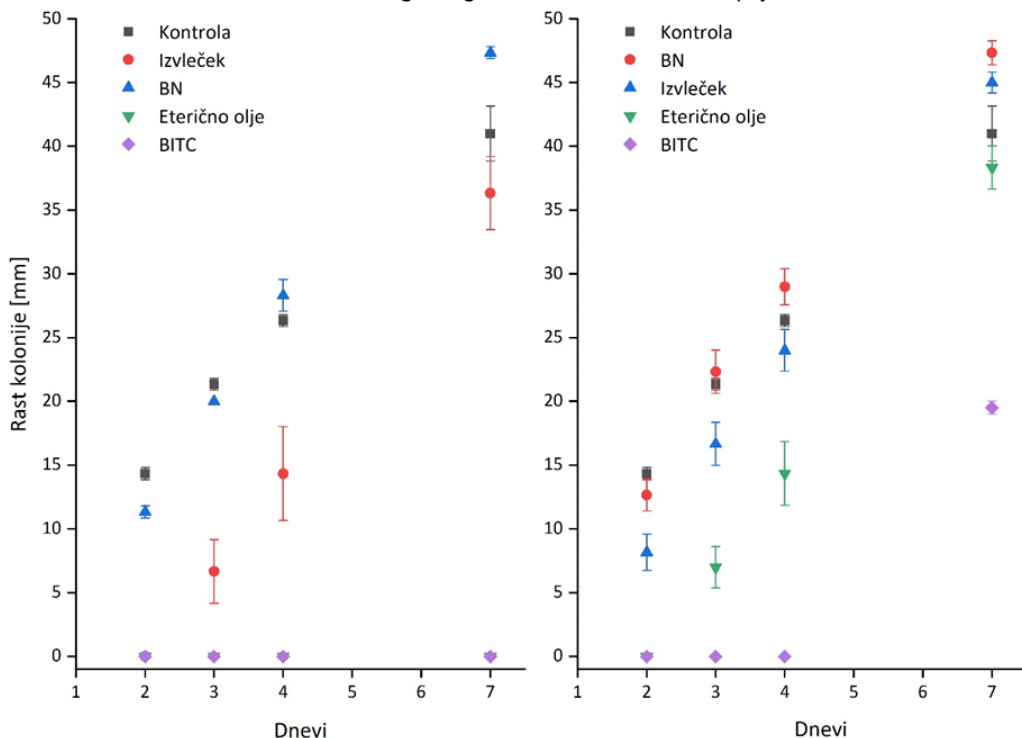
hitrejše in enostavnejše, zmanjšujejo porabo topil ter omogočajo energetsko racionalnejšo ekstrakcijo bioaktivnih komponent z manjšo porabo energije (8). V naši raziskavi smo pripravili eterično olje (EOK) ter izvleček (IZK) iz semen kapucinke z modernima ekstrakcijskima metodama (EOK z

metodo MAD in IZK z metodo MHG) (slika 1). Plinsko kromatografijo v kombinaciji z masno spektrometrijo smo uporabili za določanje sestave in deleža topnih spojin v pripravkih iz kapucinke. Na podlagi sestave smo izbrali čiste spojine, ki smo jih skupaj z EOK in IZK testirali proti plesni *A. flavus*.

Z mikrodilucijsko metodo smo določili minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) pripravkov proti plesni *A. flavus*. Zaviranje rasti plesni *A. flavus* smo nato potrdili na trdnem gojišču MEA (angl. Malt Extract Agar) ter modelih živil. Za pripravo modelov živil smo uporabili sveži sir in arašide, dve živilu, s katerih pogosto izoliramo plesen *A. flavus* (2, 4). Sveži sir (Pilos, Nemčija) in arašide (Alesto, Nemčija) smo kupili v lokalni trgovini (Lidl, Slovenija). Izdelka smo v koncentraciji 5 % posebej vmešali v agar. Agar z dodatkom

arašidov smo sterilizirali, da smo odstranili mikroorganizme. V sterilizirano gojišče MEA ter modele živil smo umešali pripravke iz kapucinke in čistih spojin v subinhibitornih koncentracijah (1/2 in 1/4 MIK), dodali po 2  $\mu$ L pripravljene suspenzije spor plesni *A. flavus* (105 CFU/mL) in ob 7-dnevni inkubaciji merili prirast kolonij plesni. Kemijska analiza je pokazala, da v EOK prevladuje benzil izotiocianat (BITC) (97,81 %). V zelo nizki koncentraciji (0,80 %) je bil prisoten tudi benzil cianid (BCN). V IZK kapucinke je prav tako prevladoval BITC (54,35 %), a je vseboval znatno več BCN (37,00 %) (9). Na sestavo ekstrakta močno vpliva način ekstrakcije, metoda MAD za EOK in metoda MHG za IZK. IZK je imel najmočnejši protiglivi učinek proti plesni *A. flavus* z vrednostjo MIK 0,03 mg/mL, EOK in čista spojina BITC sta imela enako

Slika 2: Rast plesni *A. flavus* na trdnem gojišču MEA z dodatkom pripravkov iz kapucinke (EOK in IZK) in čistih spojin (BITC in BCN) v subinhibitornih koncentracijah (levo – 1/2 MIK, desno – 1/4 MIK). Prikazane so povprečne vrednosti  $\pm$  SD.



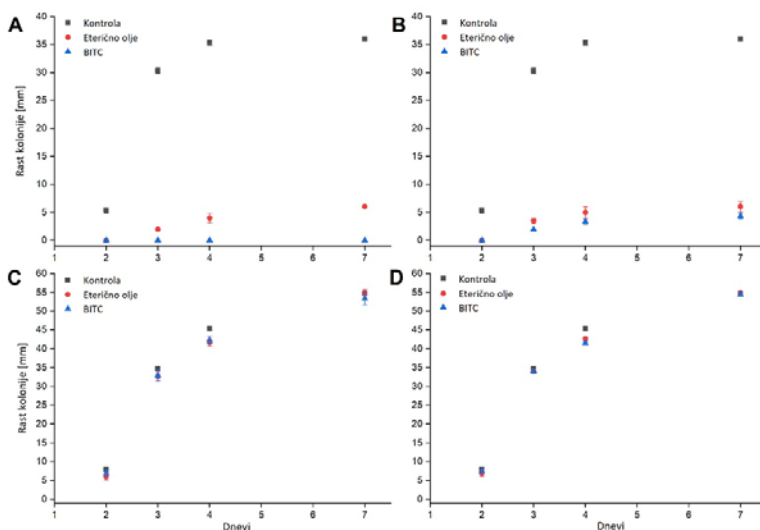


Slika 3: Učinek čiste spojine BITC v koncentraciji 1/4 MIK (levo) na rast in sporulacijo plesni *A. flavus* na trdnem gojišču MEA v primerjavi z netretirano kontrolo plesni *A. flavus* (desno) (Ramič D.).

vrednost MIK, in sicer 0,06 mg/mL. Slabši učinek je imela čista spojina BN z vrednostjo MIK 0,4 mg/mL. V EOK je prevladujoča sestavina BITC, kar lahko razloži enake vrednosti MIK obeh vzorcev. IZK sestavlja dve spojini, ki najverjetneje delujeta sinergistično, kar pomeni močnejši učinek izvlečka in slabši učinek čiste spojine BCN. Iz rezultatov lahko tudi sklepamo, da spojina BITC najbolj prispeva k protiglavnemu učinku testiranih pripravkov. V nadaljnjih poskusih smo testirali učinek pripravkov kapucinke in čistih spojin BITC in BCN v subinhibitornih koncentracijah (1/2 in 1/4 MIK) na rast plesni *A. flavus*. Rezultate smo

prikazali kot premer kolonij v milimetrih (slika 2).

EOK in čista spojina BITC sta v koncentraciji 1/2 MIK popolnoma zavrla rast plesni *A. flavus* vseh sedem dni inkubacije na trdnem gojišču MEA. IZK je v koncentraciji 1/2 MIK po štirih dneh zmanjšal rast plesni *A. flavus* ( $p < 0,05$ ) na trdnem gojišču MEA, a po sedmih dneh ni več učinkoval ( $p > 0,05$ ). Čista spojina BCN v koncentracijah 1/2 in 1/4 MIK ni imela učinka na rast plesni *A. flavus* ( $p > 0,05$ ) na trdnem gojišču MEA. EOK in čista spojina BITC sta v koncentraciji 1/4 MIK zmanjšala ali popolnoma preprečila rast plesni *A. flavus* štiri dni inkubacije na trdnem gojišču MEA



Slika 4: Rast plesni *A. flavus* na modelih živil [sveži sir (A in B) in arašidi (C in D)] z dodatkom EOK in čiste spojine (BITC) v subinhibitornih koncentracijah [1/2 MIK (A in C) in 1/4 MIK (B in D)]. Prikazane so povprečne vrednosti  $\pm$  SD.

( $p < 0,05$ ); sedmi dan EOK ni več imelo statističnega vpliva na rast plesni *A. flavus* ( $p > 0,05$ ), čista spojina BITC pa je še vedno zavirala njeno rast ( $p < 0,05$ ). Pomembno je poudariti, da je dodatek EOK in čiste spojine BITC v trdno gojišče MEA zmanjšal ali celo preprečil sporulacijo plesni *A. flavus*, kar se vidi kot odsotnost zelenega pigmenta na zračnem miceliju (slika 3). Plesni ne sporulirajo, če so to možnost izgubile, nimajo primernih razmer za sporulacijo ali če potrebujejo dlje časa za proizvodnjo spor, kar je posledica dodatka učinkovin iz kapucinke v gojišče (10). Izguba možnosti sporulacije lahko prepreči ali zmanjša širjenje plesni. Bistven vpliv na rast plesni vseh sedem dni inkubacije ima čista spojina BITC, ki je tudi prevladujoča sestavina EOK in IZK. Izotiocianati imajo sicer širok biocidni spekter proti glivam, bakterijam, žuželkam in nematodom. BITC je lipofilne narave, kar mu omogoča učinkovanje na celično membrano in posledično preprečevanje rasti plesni ter celično smrt (11). BITC tudi zmanjšuje proizvodnjo aflatoksina v oreških, kot so arašidi, mandlji, lešniki ali pistacije, kontaminiranih s plesnijo *Aspergillus parasiticus* (11).

Med testiranimi pripravki sta EOK in čista spojina BITC pokazala najboljši protiglivi učinek, zato smo ju izbrali za nadaljnje poskuse na modelih živil. Rezultate učinka EOK in čiste spojine BITC v modelih živil smo prikazali kot povprečne vrednosti premera kolonij v milimetrih (slika 4). Pri modelu svežega sira smo opazili, da sta EOK in čista spojina BITC proti rasti plesni *A. flavus* izredno učinkoviti v obeh koncentracijah (slika 4A in

4B). Čista spojina BITC je v koncentraciji 1/2 MIK popolnoma zavrla rast plesni *A. flavus*, medtem ko je EOK zavrla rast plesni *A. flavus* za približno 90 %. Pri koncentraciji 1/4 MIK sta oba pripravka na rast plesni *A. flavus* učinkovala enako ter sta rast zmanjšala za približno 90 %. Oba sta tudi zavrla sporulacijo plesni *A. flavus*, čeprav je bila sporulacija pri tem modelu živila brez dodatka izbranih pripravkov nekoliko slabša. Odsotnost sporulacije je vidna kot odsotnost zelenega pigmenta micelija. Pri modelu živila arašidov nismo opazili vpliva testiranih pripravkov

» EOK in BITC imata potencial naravnega konzervansa svežega sira, saj je njuno zaviranje rasti in sporulacije plesni izrazito tudi v zelo nizkih koncentracijah.«

na rast plesni v nobeni od testiranih koncentracij ( $p > 0,05$ ) (slika 4C in 4D). Opazili smo, da EOK in čista spojina BITC na testiranem modelu živila arašidov zmanjšujeta ali celo preprečita sporulacijo plesni *A. flavus* v obeh koncentracijah. Tudi v tem primeru zmanjšanje oz. odsotnost sporulacije vidimo kot odsotnost zelenega pigmenta micelija. Višja koncentracija pripravka sporulacijo plesni *A. flavus* močneje zavira.

EOK in BITC imata potencial naravnega konzervansa svežega sira, saj je njuno zaviranje rasti in sporulacije plesni izrazito tudi v zelo nizkih koncentracijah. Podobno so mikotoksigenim plesnim rodu *Fusarium* različni izotiocianati,

## » Ti rezultati kažejo na potencial BITC kot ekonomičnega in okolju prijaznega načina preprečevanja kontaminacije, kvara in tvorbe mikotoksinov v živilih, kot so mlečni izdelki.«

vključno z BITC, uspešno zavrla rast in sintezo mikotoksina FB2 (12). Wang in sod. (13) so prav tako pokazali, da BITC inhibira sporulacijo in rast plesni *Alternaria alternata*. BITC zmanjšuje črne pege na hruškah, ki se pojavljajo zaradi prisotnosti plesni *A. alternata*. BITC uničuje celično membrano plesni, kar povzroča izgubo elektrolitov in nukleinskih kislin ter posledično smrt celice (13). Prav tako inhibira proizvodnjo toksinov plesni *A. alternata* (13). Ti rezultati kažejo na potencial BITC kot ekonomičnega in okolju prijaznega načina preprečevanja kontaminacije, kvara in tvorbe mikotoksinov v živilih, kot so mlečni izdelki. Treba je opraviti dodatne poskuse zaviranja sinteze aflatoksinov plesni *A. flavus* in senzorične sprejemljivosti dodatka EOK in čiste spojine BITC v živilo.

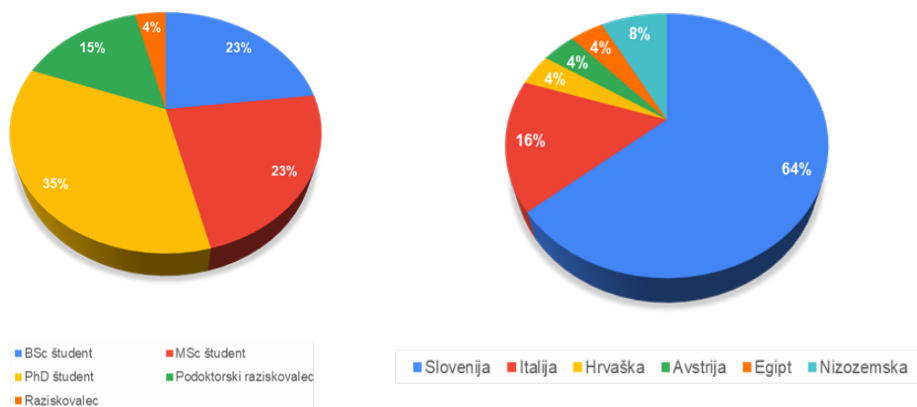
1. Fones HN, Bebbler DP, Chaloner TM, Kay WT, Steinberg G et al. Threats to global food security from emerging fungal and oomycete crop pathogens. *Nat. Food*. 2020; 1: 332–342.
2. Amaike S, Keller NP. *Aspergillus flavus*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2011; 49: 170–133.
3. Casquette R, Benito M.J, Córdoba MG, Ruiz-Moyano S, Martin A. The growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* strains on cheese model system are influenced by physicochemical factors. *J. Dairy Sci.* 2017; 100: 6987–6996.
4. Tai B, Chang J, Liu Y, Xing F. Recent progress of the effect of environmental factors on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxins production in foods. *Food Qual. Saf.* 2020; 4: 21–28.
5. Augustine CR, Avery SV. Discovery of natural products with antifungal potential through combinatorial synergy. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 866840, doi: 10.3389/fmicb.2022.866840.
6. Vrca I, Burčul F, Blažević I, Bratanić A, Bilušić T. Comparison of gastrointestinal stability of isothiocyanates from *Tropaeolum majus* L. *altum* using in vitro and ex vivo digestion methods. *Croat. J. Food Sci. Technol.* 2021; 13: 160–166.
7. Ailane L, Bennadja S, Ounaisia K, Ati S, Aouadi G. Anatomical study of garden Nasturtium (*Tropaeolum Majus* L.) growing under the climatic conditions of annaba (Eastern Algeria). *IJIAAR*. 2019; 3(2), 256–266.
8. Vrca I, Šćurla J, Kević N, Burčul F, Čikeš Čulić V, Bočina I et al. Influence of isolation techniques on the mustard seed morphology, composition of glucosinolate breakdown products, their gastrointestinal stability and antiproliferative activity. *Eur Food Res Technol.* 2022; 248: 567–576.
9. Vrca I, Ramić D, Fredotović Ž, Smole Možina S, Blažević I, Bilušić T. Chemical composition and biological activity of essential oil and extract from the seeds of *Tropaeolum majus* L. var. *Altum*. *Food Technol. Biotechnol.* 2022; 60 (4) (in press), doi.org/10.17113/ftb.60.04.22.7667
10. Mold description. Crane Environmental Services. <https://www.cranes.com/mold-descriptions> (21. september 2022).
11. Hontanaya C, Meca G, Luciano FB, Manes J, Font G. Inhibition of the Aflatoxins B1, B2, G1, and G2, production by *Aspergillus parasiticus* in nuts using yellow and oriental mustard flours. *Food Control.* 2015; 47: 154–160.
12. Azaiez I, Meca G, Manyes L, Fernández-Franzón M. Antifungal activity of gaseous allyl, benzyl and phenyl isothiocyanate in vitro and their use for fumonisins reduction in bread. *Food Control.* 2013; 32: 428–434.
13. Wang T, Li Y, Bi Y, Zhang M, Zhang T et al. Benzyl isothiocyanate fumigation inhibits growth, membrane integrity and mycotoxin production in *Alternaria alternata*. *RSC Adv.* 2020; 10: 1829.

## Poletna šola bioinformatike 2022: Primerjalna genomika in metagenomika

dr. Polonca Štefanič

Primerjalna genomika in metagenomika sta področji, ki vključujeta obravnavo in primerjavo genomskih zaporedij, pridobljenih iz bakterijskih izolatov ali s sekvenciranjem DNA neposredno iz okoljskih vzorcev. Lani smo na Biotehniški fakulteti organizirali poletno šolo, v sklopu katere smo obravnavali sestavljanje enostavnih bakterijskih genomov, letos pa smo to znanje nadgradili z osnovami primerjalne genomike in metagenomskimi pristopi k analizi podatkov. Kot vabljeni predavatelj sta pri tem sodelovala dr. Mikael Lenz Strube s Tehniške univerze v Københavnu (DTU, Danska) in dr. Ulisses Nunes da Rocha, ki prihaja s Helmholtzovega centra za okoljske raziskave (UFZ, Nemčija). Izredni profesor dr. Mikael Lenz Strube je strokovnjak na področju primerjalne genomike in napredne statistike (ang. advanced statistics), genomike fagov, ukvarja se tudi s sekundarnimi metaboliti, encimi in analizami mikrobnih združb v črevesju. Dr. Ulisses

Nunes da Rocha je strokovnjak za mikrobnno ekologijo s poudarkom na bioinformatiki in računalniški biologiji ter vodja raziskovalne skupine, ki jo sestavljajo trije podoktorski raziskovalci, 6 doktorskih študentov, 2 tehnična pomočnika in več gostujočih znanstvenikov. V raziskovalni skupini se ukvarjajo z znanostjo o mikrobnih podatkih (ang. microbial data science) in razvijajo možnosti napovedovanja in sčasoma nadzora mikrobnih skupnosti z modeliranjem. Z obema strokovnjakoma tudi sama zelo rada sodelujem, leta 2020 sem več mesecev sodelovala s skupino dr. da Roche v Leipzigu, kjer sem tudi sama nabirala nova znanja, v kratkem pa bomo začeli tudi z izmenjavami magistrskih študentov. Na poletno šolo bioinformatike, ki je na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani potekala julija (25.–29. 7. 2022), se je prijavilo 68 študentov, od tega jih je bilo 16 vpisanih v programe prve bolonjske stopnje, 29 v programe druge in 14 v programe tretje bolonjske stopnje, sedem je bilo



Slika 1: Slika 1: Struktura sprejetih udeležencev poletne šole glede na stopnjo izobrazbe (levo) in nacionalnost (desno). Letos smo se zelo razveselili mednarodne udeležbe, saj je dobra tretjina udeležencev prihajala iz tujine. Med tujci je bilo največ Italijanov, prihajali so z Univerze v Trstu in inštituta ICGEB (International centre for genetic engineering and biotechnology).

podoktorskih raziskovalcev, dve prijavljeni osebi pa sta bili zaposleni kot raziskovalki na inštitutih. Večina prijavljenih študentov (60 %) je bila vpisana v študijske programe Biotehniške fakultete, veliko prijavljenih pa je bilo tudi iz tujine, največ iz Italije in Nizozemske, za udeležbo so se zanimali tudi študenti in podoktorski raziskovalci iz Avstrije, Nemčije, Srbije, Hrvaške, Danske in Egipta. Študentje so bili na praktični del poletne šole izbrani na podlagi motivacijskih vprašanj izbirnega postopka, predznanja bioinformatike in pripravljenosti sodelovati v učnem procesu s predstavitvijo lastnih izkušenj na področju

bioinformatike. Na praktični del smo sprejeli 26 oseb, od tega 63 % študentov Biotehniške fakultete, ki so prihajali s štirih študijskih smeri: mikrobiologije, biotehnologije, biologije in agronomije. Največ je bilo študentov mikrobiologije (11), ki so prihajali z vseh treh študijskih stopenj, sledili so biotehnologi dodiplomskega in magistrskega študija (3), 2 študenta biologije dodiplomskega in magistrskega študija in študent agronomije na magistrski stopnji študija (1). Glede na stopnjo izobrazbe smo udeležence skušali razporediti čim bolj enakomerno, da bi tudi študenti prvih stopenj dobili priložnost pridobiti nova znanja in da bi se naučili sodelovati





**Slika 2:** Na poletni šoli sta predavala dr. Mikael Lenz Strube (levo) in dr. Ulisses Nunes da Rocha (desno).

medgeneracijsko. Največji je bil delež doktorskih študentov (35 %), nekoliko manj je bilo magistrskih in dodiplomskih študentov (23 %), sledili so podoktorski raziskovalci (15 %) in raziskovalci, zaposleni na inštitutih (4 %) (slika 1). Poletna šola je trajala en teden, in sicer vsak dan od ponedeljka do petka med 9. in 17. uro. Prva dva dni poletne šole je poučeval dr. Mikael Lenz Strube, ki je udeležence seznanil z osnovami genomike (slika 2). Najprej smo iz NBCI-jeve baze podatkov pridobili celotne genome izbrane bakterijske vrste, jih v prvi fazi anotirali, poiskali fagne sekvence in zaporedja za sekundarne metabolite, nato pa smo na podlagi celotnih genomov naredili filogenetsko drevo vseh pridobljenih genomskih sekvenc. Ob tem smo si osvežili spomin na osnovne ukaze, ki jih uporabljamo v programskem okolju Linux, in se naučili delati ukazne zanke (ang. loops). V sredo smo dopoldne preživeli v

sproščenem okolju na Ljubljani, kjer smo si z ladjico na vodenem ogledu v angleškem jeziku ogledali center Ljubljane. V popoldanskem času smo imeli ustne predstavitve udeležencev, ki so zajemale raznolike teme in nam dale dodaten vpogled v uporabo bioinformatike. Rok Zajc nam je predstavil intragenomske frekvence oligonukleotidov v metagenomiki, Neža Pajek Arambašič je imela predavanje »Metagenomska analiza mikrobioma kože s QIIME2«, Eva Grabner je predstavila genomsko definicijo nove vrste *Prevotella*, Karmen Jeseničnik pa plazmid pRK100: Sekvenciranje, sestavljanje in analiza celotnega nukleotidnega zaporedja. Cristina Bez je predavala o povzročitelju riževe gnilobe *Dickeya zae* in spremembah mikrobioma rastlin na polju, Leon Marič je predstavil interni cevovod za nadzor kakovosti podatkov sekvenciranja





**Slika 3:** Udeleženci Poletne šole osnov bioinformatike z organizatoriko dr. Polonco Štefanič in predavateljem dr. Ulissesom Nunesom da Rocho.

naslednje generacije, Urša Miklavčič se je predstavila s predavanjem »Primerjava analiznega pristopa (ASV proti OTU) v črevesni mikrobioti ljudi, goveda in prašičev«, Lan Gerdej pa nam je pojasnil analizo diferencialnega izražanja genov. V četrtek in petek je vajeti prevzel dr. Ulisses Nunes da Rocha, ki je predaval o metagenomskih pristopih v bioinformatiki, s poudarkom na konceptih in razumevanju osnov metagenomike (slika 2). Naučili smo se osnov alfa- in beta-diverzitete, v programskem orodju R smo se naučili uvoza podatkov iz datotek Excel, nato pa izvedli analizo amplikonskega sekvenciranja. Izračunali smo alfa- in beta-diverziteto, določili OTU-je, naredili multivariantno

analizo amplikonskih sekvenc in na podlagi amplikonov določili matriko relativne pogostosti. Spoznali smo se tudi z osnovami strojnega učenja in na podlagi vzorčnih podatkov računalnik »naučili« algoritma, ki smo ga preverili na validacijskem setu podatkov. Vzdušje na poletni šoli je bilo zelo sproščeno in prijetno, stkali smo prijateljske vezi in se dogovorili tudi za prvo mednarodno izmenjavo za magistrskega študenta z inštitutom UFZ v Leipzigu (slika 3). Zahvaljujemo se za pomoč SMD: za donacijo, ki je pripomogla k osvežitvi, meseca julija je bilo namreč neizmerno vroče in s pomočjo SMD smo študentom priskrbeli potrebno pijačo in prigrizke. Še enkrat hvala!

**BOŽIČNA NOČ 2021**  
**(ob 30. obletnici odločitve za državo Slovenijo)**

Naš narod verjame,  
da se svobodo kar vzame,  
saj skoraj brez muk je državo dobil  
in v žepe mogotcev lastnino prelil.

Gneva na tone,  
namesto bombone,  
narodu daje povzpetniški rod.  
Brez kančka sramu nas bi odplaknil od tod.

Narod že pljuva, cvili, vzdihuje.  
Še dobro, da advent, solsticij kraljuje,  
od noči pričakuje, da prevlada jo dan.  
Mogoče bo gnev iz src ljudstva pregnan?

Bog daj, da bi to se zgodilo,  
da bi narod spet s pozitivizmom spojilo.  
Državo zapeljalo na bolj umirjeno pot,  
vedoč, da nikoli ne gre brez nezgod.

Resnica je taka, da življenje je tlaka,  
hrepenenje in upanje vsakega čaka,  
če pamet in srce z modrostjo spoji,  
takrat zagotovo spokojno živi.

Če take si čase bomo naredili,  
bomo korak pravi za jutri storili.  
Narod bo živel in delal in imel,  
državo bo ljubil in zanjo živel.

Bomo pod soncem užili lepoto,  
bivanja in čutenja pravo krasoto.  
Spodobnost človeka v človeku gojili,  
sosedov uspeh, kot lastnega užili.

Skromnost telesa, bogastvo duha  
je tisto kar smisel mislečemu da,  
a do tega spoznanja strma je pot,  
zato je v družbi še mnogo zablod.

Tako, naj nas smreka, bor in še brin  
s simboli ljubezni, življenja spoje,  
da bomo živel in pustili prav vse,  
saj vse drugo za Zemljo bil bi zločin.

(Peter Raspor, 22. 12. 2021)

## Mikrobiologija v sliki



Melanizirane kolonije glive *Aureobasidium melanogenum*, najpogostejše naseljevalke podzemne vode, na gojišču s sladnim ekstraktom (MEA).

Avtorica: Monika Novak Babič.



Kolonije kvasovke *Candida parapsilosis* sensu stricto  
na gojišču s sladnim ekstraktom (MEA).

Avtorica: Monika Novak Babič.



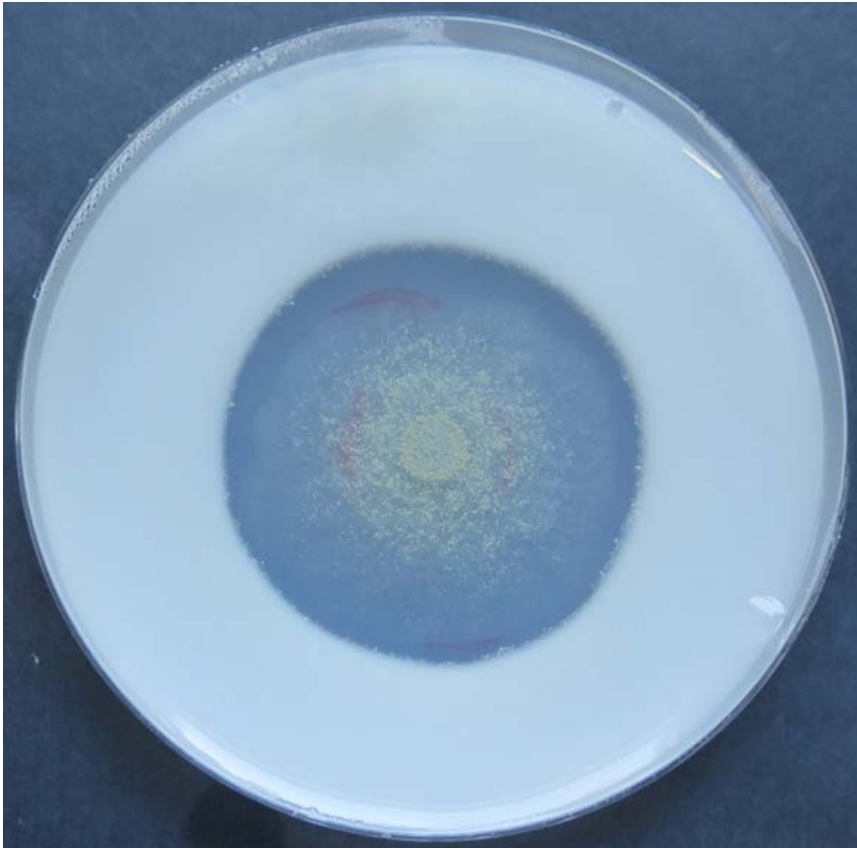
Rast glive *Fusarium oxysporum*  
na vodnem gojišču z dodatkom komercialnega mehčalca  
do končne koncentracije 1 %.

Avtorica: Monika Novak Babič.



Rastne strukture črne kvasovke vrste *Exophiala phaeomuriformis* pod svetlobnim mikroskopom, pri 400-kratni povečavi.

Avtorica: Monika Novak Babič.



Rast glive *Penicillium bialowiezense*  
na gojišču z dodatkom kalcijevega karbonata ( $\text{CaCO}_3$ ).  
Gliva naseljuje podzemne vode krasa.  
Nekateri sevi lahko znižajo pH v gojišču tudi za 3 enote (s 7 na 4).

Avtorica: Monika Novak Babič.