

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2014/29



## ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

### A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

#### 1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

<b>Šifra projekta</b>	J4-3631
<b>Naslov projekta</b>	Ekologija socialni interakcij pri bakteriji <i>Bacillus subtilis</i>
<b>Vodja projekta</b>	5993 Ines Mandič Mulec
<b>Tip projekta</b>	J Temeljni projekt
<b>Obseg raziskovalnih ur</b>	7474
<b>Cenovni razred</b>	D
<b>Trajanje projekta</b>	05.2010 - 04.2013
<b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
<b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b>	377 Zavod za zdravstveno varstvo Maribor 1554 Univerza v Ljubljani, Fakulteta za matematiko in fiziko
<b>Raziskovalno področje po šifrantu ARRS</b>	4 BIOTEHNIKA 4.03 Rastlinska produkcija in predelava
<b>Družbeno-ekonomski cilj</b>	08. Kmetijstvo
<b>Raziskovalno področje po šifrantu FOS</b>	4 Kmetijske vede 4.01 Kmetijstvo, gozdarstvo in ribištvo

### B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

#### 2. Povzetek raziskovalnega projekta<sup>1</sup>

SLO

Bakterije komunicirajo s kemičnimi signali in tako zaznavajo visoko število celic (kvorum) v populaciji in koordinirajo odzive na nivoju skupnosti. Razumevanje bakterijskega komuniciranja je pomembno za aplikacije v industriji, medicini, prehrani in kmetijstvu. V okviru tega projekta smo preučevali komunikacijski sistem (KS) pri industrijsko in okoljsko pomembni bakteriji *B. subtilis*. Ta KS uravnava sprejem DNA iz okolja, sintezo lipopeptidnega antibiotika surfaktina in sintezo zunajceličnih polimerov (EPS); lastnosti, ki so pomembne za rast na površinah (npr. površini korenin) ter preživetje v stacionarni fazi rasti. KS ComQXPA, ki smo ga preučevali, je visoko polimorfen znotraj vrste, kar omeji komuniciranje med sorodniki na tiste, ki imajo enak KS (enak ferotip), medtem ko sevi z različnimi KS ne komunicirajo. Predpostavili smo, da lahko standardne inokulacijske postopke bacilov

za zaščito rastlin izboljšamo, če poznamo 1) pestrost KS v naravnih habitatih, 2) povezavo med signaliziranjem in odzivom, ter 3) odzive naravnih izolatov v biofilmih ter v mešanih kulturah. Rezultati naših raziskav kažejo, da se raznolikost komunikacijskih tipov ComQXPA ohranja v naravnih okoljih (tla /rizosfera), kar omejuje komuniciranje med sorodniki znotraj vrste tudi v naravnem okolju. Ugotovili smo, da v tleh na mm razdaljah sobiva več ekoloških tipov bakterije *B. subtilis* in da ima večina izolatov enakega ekotipa enak ferotip, čeprav ne vsi. To pomeni, da je evolucijo ferotipske raznolikosti mogoče delno razložiti z ekološko adaptacijo. Dodatno smo osamili in okarakterizirali izolate *Bacillus* iz rizosfere paradižnika in vpeljali modelni sistem *Bacillus/Arabidopsis thaliana*, s katerim smo vrednotili vpliv bakterij na rast rastline in tako določili inokulante, ki delujejo pospeševalno na rast rastlin ter take, ki zavirajo rast rastlinskih patogenov (npr. *Ralstonia solanacearum*). Učinek inokulacije se je razlikoval pri inokulaciji rastline z enim ali s skupino sevov in v določenih kombinacijah sevov smo zaznali sinergistični učinek delovanja, pri drugih pa antagonizem. Preučili smo tudi kemijsko sestavo EPS pri *B. subtilis* in določili vsebnost levana, zunajcelične DNA in proteinov. Prisotnost levana je spremenila viskoelastičnost EPS. Ugotovili smo, da sta polisaharad EpsA-O in protein TasA nujno potrebna za zadrževanje sicer vodotopnega levana v biofilmu, kar posledično prispeva k trdnosti biofilma. Odkrili smo nov molekularni mehanizem, ki ščiti bakterijsko skupnost pred vdorom goljufov, ki ne sintetizirajo signala. Posledica okvarjene sinteze signala je namreč prekomerno odzivanje mutant na signal, ki ga proizvajajo ostali člani skupnosti, kar zniža fitness mutant. Poleg tega smo odkrili mehanizem prepoznavanja lastnih potomcev v naravnih populacijah *B. subtilis*, ki je pomemben predvsem za bakterije, ki rastejo na površinah. Rezultate projekta smo objavili v več uglednih znanstvenih revijah (npr. v *PNAS*, *EM*, *J. Bacteriol*).

ANG

Bacteria communicate by chemical signals through which they monitor cell density (quorum) and coordinate their group living. This mechanism, also referred to as quorum sensing, is important for applications of microorganisms in agronomy, industry and medicine. Within this project the quorum sensing system (QS) of an agriculturally and industrially important bacterium *Bacillus subtilis* was used as a model. This QS, encoded by the *comQXPA* operon, regulates uptake of DNA from the environment and the synthesis of surfactants, and extracellular polymers (EPS) that are important for biofilm formation. It is also interesting because of its high polymorphism within the species, which limits communication between strains, such that only the strains within the same QS type (pherotype) exchange information efficiently. We aimed to understand 1) the diversity of QS systems in natural habitats, 2) relationships between signaling and response, and 3) responses of natural isolates in biofilms and in mixed cultures. Our results showed that the diversity of the ComQXPA system is preserved in natural habitats (soil/rhizosphere), which limits communication between relatives of the same species also in their natural environment. Different ecotypes were shown to co-exist in soil at mm scales and with few exceptions each ecotype strongly associated with a different pherotype. This suggests that the evolution of pherotype diversity could partly be explained by ecological adaptation. Additionally, isolates of *Bacillus* were obtained from tomato rhizosphere and their influence on the plant growth was evaluated by using the *Bacillus/Arabidopsis thaliana* in vitro model system. Isolates showing plant promoting activity as well as those that inhibit plant pathogens (i.e. *Ralstonia solanacearum*) were found. The effect of inoculation was different when one or more strains were co-inoculated. Some combinations of strains acted synergistically, while others were antagonistic. Chemical composition of EPS was studied and we found that in the presence of levan, viscoelasticity of EPS is changed and that the polysaccharide EpsA-O and the protein TasA are essential to anchor an otherwise water-soluble levan in the biofilm. Levan also contributed to the strength of the biofilm. Next, a new molecular mechanism was discovered, which protects the bacterial community from invasion by cheaters that fail to produce the QS signal. These become hyper-cooperators in the presence of the signal, which leads to their fitness loss. Finally, we discovered a novel self-recognition mechanism in natural populations of *B. subtilis*, which is important for bacteria growing on surfaces. Results of the project were published in respected scientific journals (i.e. in *PNAS*, *Envir microbiol*, *J. Bacterio*, *PIOS one!*) and are important for improvement of inoculation procedures that involve *Bacillus subtilis* isolates as biopesticides or PGPR.

### 3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu<sup>2</sup>

V okviru projekta smo preučevali sistem za komunikacijo (zapisan v operonu *comQXPA*) pri industrijsko in okoljsko pomembni modelni bakteriji *Bacillus subtilis*. Ta sistem uravnava sintezo surfaktina, ki je lipopeptidni antibiotik z biozaščitnim potencialom, razvoj biofilma in sintezo zunajceličnega matriksa (EPS). Operon *comQXPA* je pri izolatih iz tal visoko polimorfen na nivoju genov *comQ*, *comX* in *comP*, kar ima za posledico omejen pretok komunikacije med sevi *B. subtilis*. Predpostavili smo, da bi lahko standardne inokulacijske postopke bacilov za zaščito rastlin izboljšali, če bi poznali pestrost in delovanje komunikacijskega sistema tudi v tleh/ rizosferi in v heterogenih okoljih, ki so bližje naravnemu habitatu. Cilji projekta so bili optimizacija metod, ki so primerne za aplikacijo v kompleksnih sistemih in ugotavljanje povezav med okoljem (tla in rizosfera), mikrobno pestrostjo (komunikacijske skupine bakterije *B. subtilis*), socialnimi interakcijami (celično signaliziranje) in delovanjem ekosistema (biokontrolna aktivnost).

#### **WP1: Optimizacija molekularnih orodij in metod za študij raznolikosti komunikacijskih tipov (BF, ZZV-MB)**

Z bioinformacijskimi orodji smo za vsak ferotip izdelali specifične pare oligonukleotidnih začetnikov za pomnoževanje gena *comQ*, kar omogoča direktno prepoznavanje ferotipov. Tudi kvantitativne reakcije PCR so bile specifične za komunikacijske tipe (ferotipe) in so omogočile boljše kvantifikacijo števila kopij posameznega ferotipa v čistih kulturah oz. kokulturah; v kompleksnih okoljih (tla in rizosfera) pa ta metoda ni bila uspešna zaradi premajhnega števila celic posameznega ferotipa v tleh. Za določanje raznolikosti filotipov in komunikacijskih tipov smo optimizirali metodi BOX-PCR in DGGE (denaturacijska gradientna gelska elektroforeza). Za testiranje zastavljenih hipotez smo pripravili nabor novih rekombinant naravnih izolatov *B. subtilis*, ki vsebujejo fluorescenčne poročevalske gene (npr. *yfp*, *cfp*) in optimizirali metode za epifluorescenčno kvantifikacijo njihove aktivnosti. V sodelovanju s skupino prof. D. Dubnau (New York, USA) smo uspeli sekvencirati in objaviti celotni genom našega izolata iz nabrežja reke Save *Bacillus subtilis* PS216 (Durrett in sod., 2013 [COBISS.SI-ID [4273272](#)]), kar nam daje ogromno informacij za nadaljnje študije. Objavili smo tudi poglavje v mednarodni monografiji o naprednih molekularnih orodjih za analizo mikrobnih združb in njihovih interakcij v rizosferi (avtorja van Elsas in Mandič-Mulec, 2013 [COBISS.SI-ID [4234360](#)]). Razvili smo tudi molekularna orodja (modeli HMM) za iskanje homologov lokusa *comQXPA* v objavljenih genomih in z bioinformacijsko analizo ugotovili, da homologe najdemo v različnih rodovih debla *Firmicutes* (članek v recenziji: Dogša in sod., 2014).

#### **WP2: Vpliv raznolikosti komunikacijskih tipov na fitness populacije (BF)**

Sobivanje med periodičnim precepljanjem kokulture dveh divjih tipov *B. subtilis* (na 48 ur) smo sledili **v tekoči kulturi** z metodo določanja števila celic, ki tvorijo kolonije (CFU). Naravne seve smo v parih nacepili na **poltrdno gojišče** za rojenje (gojišče B) in opazovali rast kolonij (**biofilmov**) na površini gojišča. Pri dveh enakih sevih je prišlo do zlitja roječih kolonij, pri dveh različnih sevih pa je večinoma prišlo do pojava mejne linije. Za ta pojav je odgovoren doslej še nepoznani mehanizem prepoznavanja lastnega in tujega. Naši rezultati kažejo, da prepoznavanje najverjetneje ni odvisno le od komunikacije s peptidi, temveč pri tem sodelujejo tudi drugi geni (npr. *srfA*). Pojav mejnih linij je povsem novo in nepričakovano odkritje tega projekta. Rezultate smo prvič prikazali v okviru konferenc ([COBISS.SI-ID 4309112] [COBISS.SI-ID 4259960]), nastalo je tudi diplomsko delo [COBISS.SI-ID 3941752]. Za preučevanje **sobivanja v tleh** smo inokulirali kokulture naravnih izolatov različnih ferotipov *B. subtilis* v tla do končne koncentracije  $10^2$  celic/g tal iz tal. Ugotovili smo, da tako enaki kot različni ferotipi *B. subtilis* sobivajo v tleh. Dinamika rasti in sporulacije v tleh je bila v kokulturah sevov podobna kot v čistih kulturah posameznih sevov. Če sta bila seva inokulirana v različnih začetnih koncentracijah, se je razmerje števila celic in spor med posameznima sevoma

ohranilo skozi inkubacijo. Razmerja so se ohranila tudi po reinokulaciji 1 g tal v 30 g sterilnih tal. To kaže, da v heterogenem okolju, kot so tla, ne prihaja do močne kompeticije med sevi. **Fitnes populacij naravnih izolatov** smo določali tudi v **mešanih / čistih kulturah**. V nasprotju z rezultati v tleh opazimo v laboratorijskih kulturah intenzivno kompeticijo, še posebej v tekočih kulturah dveh sevov enakega ekotipa. Ugotovili smo tudi, da se frekvenca mutante *B. subtilis* 216  $\Delta comQ$  v kokulturi z divjim tipom signifikantno zmanjša, medtem ko ima mutanta, če raste sama, enak fitnes kot divji tip. Mutanta se intenzivneje odziva na ComX kot divji tip, kar sproži povečano produkcijo surfaktina in poslabša fitnes mutante v kokulturi. Te rezultate smo objavili v eni najprestižnejših revij PNAS [Oslizlo in sod., 2014 COBISS.SI-ID 4358008], kar predstavlja izjemen dosežek naše skupine in tega projekta, saj smo prvi na svetu odkrili mehanizem, vezan na pravilno delovanje KS, ki ščiti skupnost pred vdorom mutant.

### **WP3: Fizikalno kemijska sestava in viskoelastične lastnosti EPS (BF, FMF)**

Ugotovili smo, da pri bakteriji *B. subtilis* 3610 **sestava gojišča signifikantno vpliva na kemijske lastnosti EPS** v plavajočem biofilmu in izrabljenem gojišču pod njim, in sicer se spremeni razmerje med polisaharidi, proteini in nukleinskimi kislinami v EPS. V biofilmih smo zasledili različne velikostne razrede v EPS v območju od 20 do več tisoč kDA, medtem ko so se v izrabljenem gojišču nakopičili le polimeri manjših velikosti. V EPS biofilmov, gojenih v MSgg gojišču, so prevladovali proteini, medtem ko je EPS v gojišču, bogatem s saharozo, v večini sestavljen iz polisaharidov in so bili proteini v manjšini. **Prevladujoči polisaharid** je bil **levan**, ki ga do zdaj v biofilmih *B. subtilis* še niso odkrili. V vseh tipih gojišč smo v biofilmih odkrili tudi **zunajcelično DNA (eDNA)**.

**Biofilmi**, ki so vsebovali **levan**, so bili **bolj odporni na strižne sile**, vendar pa levani sam po sebi ni zadosten za tvorbo biofilma. Naši rezultati kažejo, da sta polisaharid **EpsA-O** ter protein **TasA** **nujno potrebna za tvorbo biofilma** in zadrževanje sicer vodotopnega levana v biofilmu. Rezultate teh raziskav smo objavili v reviji PLoS one (Dogša in sod., 2013 [COBISS.SI-ID 4242040]). Ker bi naj bila komunikacija preko izražanja surfaktina ključna za nastanek biofilma, smo poleg laboratorijskih sevov *B. subtilis*, ki ne producirajo surfaktina, preučevali tudi seve divjega tipa, ki smo jim dodali fluorescenčni označevalec *srfa-yfp* (PS 216 *srfa-yfp*) in označeno izogeno mutanto ( $\Delta comQ$ ). Ugotovili smo, da so **biofilmi** obeh sevov **različni po morfologiji in izražanju surfaktina**, ki je višje pri divjem tipu. S **kvantitativno fluorescenčno mikroskopijo** smo merili **izražanje *srfa* operona v biofilmih** in potrdili heterogenost izražanja.

V okviru teh raziskav smo v laboratorij **vpeljali nove metode**: izolacija in kemijska analiza EPS s spektrofotometrijo, HPLC in TLC. Razvili smo **metodo za merjenje viskoelastičnih lastnosti EPS** na mikronskih velikostnih skalah z računalniško vodeno lasersko pinceto (FMF). Testirali smo več različnih pristopov mikroeologije z lasersko pinceto in na realnih bioloških vzorcih pokazali, da je laserska aktivna enodelčna mikroeologija dovolj občutljiva in ponovljiva metoda, da lahko zaznamo spremembe lokalne viskoznosti matriksa že v zgodnjem stadiju njegovega formiranja. Ugotovili smo, da se **viskoelastičnost** sicer realtivno neviskoznega levana bistveno **poveča**, če se v okolju pojavi DNA. Meritve optične pincete izoliranega EPS so sicer še v teku (FMF), en članek pa je še v pripravi.

### **WP4: Ocena povezav med lastnostmi okolja, raznolikostjo in delovanjem ekosistema v kompleksnih okoljih (ZZVMB, BF)**

*Ocenitev vpliva habitata na raznolikost specifičnih komunikacijskih tipov in filotipov*  
V eni najboljših revij na področju okoljske mikrobiologije smo objavili članek o raznolikosti sistema za zaznavanje kvoruma pri naravnih izolatih *B. subtilis* iz talnega mikrookolja. Ugotovili smo, da se izolati v tem okolju delijo v 3 ekološke tipe in da so znotraj ekotipa v prevladi izolati enega ferotipa, prisotni pa so še drugi manjšinski ferotipi (Štefanič in sod., 2012 [COBISS.SI-ID 4044408]). Poleg tega smo pridobili novo **kolekcijo sevov *B. subtilis*** iz rizosfere paradižnika (ZZV-MB) in jih okarakterizirali na nivoju filogenije (sekvenciranje gena *gyrA*) in na nivoju ferotipov

(sekvenciranje gena *comQ* in specifična aktivacija QS odziva testerskih sevov). Ugotovili smo, da je **diverziteta ferotipov v rizosferi** primerljiva s tisto, ki smo jo pokazali v tleh nabrežja reke Save. Na eni rastlini paradižnika je bilo prisotnih več ferotipov. Opazili smo tudi, da se sevi razlikujejo v nekaterih **biokontrolnih lastnostih**: tvorba biofilma, sinteza surfaktina in izločanje ekstracelularnih encimov. Šest izoliranih sevov iz rizosfere paradižnika (ZZV-MB) je pripadalo sorodnim vrstam rodu *Bacillus* (*B. pumilus*, *B. licheniformis* in *B. amyloliquefaciens*) in niso sprožili QS odziva v nobenem od testerskih sevov (BF). Optimizirali smo **detekcijo ferotipov direktno v tleh** s pomočjo molekularnih orodij in ugotovili, da je številčnost predstavnikov enakega ferotipa v tleh prenizka za aplikacijo PCR. Poskušali smo pridobiti več izolatov iz rizosfere različnih vrtnin (grah, paradižnik, solata), vendar smo pri večini poskusov pridobili le polzeče bakterije, ki so onemogočale izolacijo čistih kultur. Izolate *Bacillus subtilis* (13), pridobljene iz rizosfere paradižnika, smo preučevali z MIDI (uvrščanje temelji na profilu maščobnih kislin) in z MALDI (uvrščanje temelji na proteinskih masnih spektrih). Z MIDI smo 12 sevov potrdili kot *B. subtilis*, preostale pa kot *B. licheniformis*, *B. pumilus* in *B. megaterium*. Izmed 13 potrjenih sevov je sistem MALDI potrdil samo 4. Naši rezultati so pokazali, da lahko v enem habitatu sobivajo različni komunikacijski tipi in da so vzorci v tleh podobni kot v rizosferi. Članek je v pripravi, rezultati so bili prikazani na mednarodnih kongresih BAGECO (ŠTEFANIČ in sod., 2013, [COBISS.SI-ID 4261496] in v okviru vabljenega predavanja na Power of microbes in industry and environment 2013 [COBISS.SI-ID 4309112]. O tej tematiki smo objavili tudi poglavje v knjigi: Mandič-Mulec in Prosser, 2012 [COBISS.SI-ID [3897720](#)].

*Določanje vpliva komunikacijskih tipov v modelu rastlina/patogen/biopesticid*  
Optimizirali smo modelni sistem za preučevanje interakcij rastlina-*Bacillus*, s katerim lahko testiramo biozaščitni potencial bakterijskih izolatov in vpliv ferotipov na ta potencial. Uporabili smo rastlino *Arabidopsis thaliana*, semena smo kalili na gojiščih z agarjem skupaj z bakterijami. Pokazali smo, da so nekateri sevi vidno pospešili rast korenin in listov (za več kot 2-krat v primerjavi s kontrolo), nekateri so jo zmanjšali, nekateri pa niso imeli nobenega vpliva v primerjavi z neinokulirano kontrolo. Poleg tega smo preverili še produkcijo rastlinskega hormona IAA, produkcijo sideroforjev in raztapljanje fosfatov, ki naj bi pozitivno vplivali na rast rastline. Pokazali smo, da izolat *B. megaterium*, ki najmočneje spodbuja rast modelne rastline, producira visoko koncentracijo rastlinskega hormona IAA in sideroforjev. Preverili smo tudi, ali se pri inokulaciji z mešanimi kulturami, pripravljenimi iz izolatov, ki so spodbujale rast v monokulturah, še poveča učinek na rast modelne rastline. Optimizirali smo tudi gojenje bakterij v biofilmih na koreninah paradižnika v tekočih gojiščih in bili delno uspešni. Aplikacija te metodologije zahteva nadaljnjo optimizacijo predvsem na nivoju mikroskopske analize biofilmov. Članek, v katerem bomo objavili rezultate o učinku naših izolatov na rast rastlin, je v pripravi, rezultati so bili prikazani na kongresu BAGECO [COBISS.SI-ID 4261496].

#### 4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev<sup>2</sup>

V okviru prvega glavnega cilja projekta nam je uspelo prenesti metodologijo, ki je bila do sedaj uporabljena na čistih bakterijskih kulturah, na kompleksne sisteme – to je v mešane stresane kulture in biofilme. Prenos molekularnih metod za detekcijo ferotipov na sisteme tla/rizosfera nam ni uspel. Razlog je v prenizkem številu predstavnikov enakega ferotipa v tleh. Ugotovili smo, da je v tleh največ  $10^4$ -  $10^5$  vseh bakterij vrste *B. subtilis*, običajno pa še manj. To smer raziskav smo zato opustili. Drugi glavni cilj projekta pa je bil preveriti naslednje štiri hipoteze: (1) Fitnes bakterij *B. subtilis* v biofilmih, sestavljenih iz sevov različnih komunikacijskih tipov, bo večji kot fitnes v biofilmih, sestavljenih iz samo enega komunikacijskega tipa. (2) Viskoznost in elastičnost lokalnega okolja bakterij se bo povečala skupaj z naraščajočim EPS. (3) Na raznolikost komunikacijskih tipov vplivajo dejavniki okolja, še posebno tip habitata (tla, rizosfera) ter vrsta rastline. (4) Povečana raznolikost komunikacijskih tipov bakterije *B. subtilis* ima sinergističen vpliv na biopesticidno aktivnost *B. subtilis* proti patogenim bakterijam v rizosferi. Hipotezo 1 smo delno ovrgli z eksperimenti na poltrdnih gojiščih, ki kažejo, da se različni sevi med seboj ne

prepoznava in ne tvorijo skupnega biofilma. Eksperimenti v tekočih kulturah in v tleh, kjer smo testirali sobivanje številnih kombinacij sevov, pa kažejo, da nekateri sevi med seboj lahko sobivajo in se njihova razmerja ohranjajo, druge kombinacije sevov pa niso stabilne - en ekotip preraste drugega, pa tudi 'goljufivce', ki ne proizvajajo signala za komunikacijo, s časom izločijo enake bakterije, ki pa so sposobne medsebojne komunikacije. Zadnje ugotovitve smo objavili v zelo ugledni znanstveni reviji PNAS (IF=10) (Oslizlo in sod., 2014). Pokazali smo tudi, da so biofilmi, ki vsebujejo levan, bolj odporni na strižne sile in da se viskoelastičnost bistveno poveča ob prisotnosti DNA, kar je v skladu s hipotezo 2. Hipotezo 3 lahko vsaj delno ovržemo glede na to, da smo v eni sami rastlini paradižnika pokazali enako raznolikost ferotipov kot v tleh mikrookolja nabrežja reke Save. Raziskave v okviru projekta so tekle večinoma po planu, veliko časa pa smo posvetili razvoju metodologij, ki za kompleksnejše sisteme še niso povsem optimizirane. V okviru WP4 smo uspeli objaviti zelo pomemben članek (Štefanič in sod., 2012), v okviru katerega smo testirali hipotezo povezave med ferotipi in ekotipi. Optimizirali smo tudi modelni sistem *Arabidopsis thaliana*-*Bacillus* in deloma potrdili hipotezo 4, saj je imela inokulacija mešanih kultur precej drugačne učinke na rastlino kot pa posamezne monokulture.

V okviru projekta smo objavili 4 znanstvene članke v eminentnih znanstvenih revijah vključno z ravnokarsprejetim člankom v PLoS one, 3 članki so še v pripravi. Objavili smo tudi 2 poglavji v monografijah mednarodnih založb. Skupaj naštetje objave kažejo, da smo izpolnili zastavljene cilje projekta.

#### 5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine<sup>4</sup>

Večjih sprememb projekta ni bilo. V projekt smo dodatno vključili raziskave bakterijskega prepoznavanja lastnih potomcev, kar je povsem novo odkritje tega projekta in bomo raziskave nadaljevali v okviru programske skupine. Opustili smo nadaljnji razvoj metode molekularnega sledenja komunikacijskih tipov direktno v tleh, ker smo ugotovili, da je v naravnih okoljih frekvenca posameznega ferotipa prenizka za aplikacijo te metode v relanih ekosistemih. Tehnologija PCR v tleh za zdaj še ni dovolj specifična za detekcijo tako nizkega števila celic na gram tal ( $< 10^3$  celic enega ferotipa). Kljub vsemu smo metode razvili do te mere, da lahko te apliciramo na mešane kulture v laboratoriju. Dodatno smo razvili metodo čiščenja in kvantifikacije feromona ComX in surfaktina, kar v osnovi ni bilo planirano v projektu, a se je izkazalo kot nujno za testiranje postavljenih hipotez in za raziskavo, ki smo jo objavili v PNAS, 2014.

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

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	4358008	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Privatna povezava med signalom in odzivom na zaznavanje kvoruma pri bakteriji <i>Bacillus subtilis</i>
		ANG	Private link between signal and response in <i>Bacillus subtilis</i> quorum sensing
	Opis	SLO	Raziskava, objavljena v eni najbolj priznanih znanstvenih revij na svetu (pet letni IF 10.5), prvič razkrije privatni oz. znotraj celični molekularni mehanizem pri bakteriji <i>Bacillus subtilis</i> , ki "kaznuje goljufce" medceličnega signaliziranja. Goljufive bakterije so tiste, ki same ne proizvajajo signalov temveč jih "kradejo" bližnjim celicam. Odkrili smo, da se signalne mutante na signal bližnjih celic prekomerno odzivajo in posledično sintetizirajo več lipopeptidnega antibiotika surfaktina. Mutante končajo kot poraženke, ker so na surfaktin bolj občutljive kot producentke signala. Mehanizem tako izloči goljufce in utrdi sodelovanje med člani skupnosti. Naša študija prinaša nov pogled na medcelično signaliziranje bakterije <i>Bacillus subtilis</i> in ponuja razlago za evolucijsko stabilnost kemičnega signaliziranja pri tej in verjetno tudi pri drugih po Gramu pozitivnih bakterijah. Raziskava je dodatno zanimiva tudi zato, ker je bakterija <i>Bacillus subtilis</i> v uporabi kot

		biopesticid; pomembna kot producent antibiotikov, vitaminov, industrijskih encimov ter znana kot probiotik. Poleg tega Bacillus tvori spore, najbolj trdožive dormantne celice na našem planet.
	ANG	In a social process called Quorum Sensing (QS) bacteria secrete and share signaling molecules that bind to specific receptors and induce adaptive responses within the population. We use the ComQXP QS system of Bacillus subtilis to study the intracellular co-dependence of two essential QS functions: signal production and signal response. We demonstrate that the QS signal-deficient mutants have an overly responsive QS system, disturbed balance between the primary and secondary metabolism and overproduce the secondary metabolite surfactin in the presence of exogenously provided signal. Such mutants fail to compete with the socially active signal producers due to surfactin-related mechanisms that discriminate the two populations. We believe that a constraint on signal production preserves QS functionality in the natural microbial populations. The work is also important because it addresses a Gram positive bacterium Bacillus subtilis, where QS is much less understood than in Gram negative bacteria, and also because B. subtilis is highly important industry, and for animal and plant health as probiotic and biopesticide. It also forms spores, the most resistant cells on our planet.
	Objavljeno v	National Academy of Sciences; Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America; 2014; Str. [1-6, v tisku]; Impact Factor: 9.737; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.514; A'': 1; A': 1; WoS: RO; Avtorji / Authors: Oslizlo Anna, Štefanič Polonca, Dogša Iztok, Mandić-Mulec Ines
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	4242040 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Raznolikost zunajceličnih polimerov in vloga levana v biofilmih bakterije Bacillus subtilis
		ANG Exopolymer diversity and the role of levan in Bacillus subtilis biofilms
	Opis	SLO Zunajcelični polimeri (EPS) so ključni za nastanek biofilmov in njihova kemična sestava lahko vpliva na lastnosti biofilmov. V članku smo prvi pokazali, da je sestava biofilmov bakterije Bacillus subtilis odvisna od sestave gojišča in da prisotnost saharoze sproži zelo močno sintezo polisaharida levana, ki pomembno prispeva k debelini in trdnosti biofilma ter tudi kompenzira negativne učinke mutacij v genih tasA in eps, ki so ključni za sintezo zunajceličnih polisaharidov in formacijo biofilmov pri tej bakteriji. Poleg tega smo pokazali, da so v EPS poleg polisaharidov prisotni tudi proteini in DNA in da se njihova vsebnost spreminja s sestavo gojišča. Na podlagi rezultatov smo predlagali hipotezo, da visoka koncentracija topnih polisaharidov (levan) v EPS predstavlja mehanizem shranjevanja rezervne hrane, če ti polisaharidi ostanejo vezani na celični matriks.
		ANG Exopolymeric substances (EPS) are important for biofilm formation and their chemical composition may influence the biofilm properties. To explore these relationships chemical composition of EPS from Bacillus subtilis biofilms grown in different media was studied. We observed marked differences in composition of EPS polymers isolated from biofilms grown in different media. The polysaccharide levan dominated the EPS in biofilms grown in sucrose rich media in addition to proteins and DNA. Biofilms also differed in thickness and the biofilm defective phenotypes of tasA and eps mutants were partially compensated in the sucrose rich medium. Since sucrose is essential for synthesis of levan and the presence of levan was confirmed in all biofilms grown in media containing sucrose, this study for the first time shows that levan, although not essential for biofilm formation, can be a structural and possibly stabilizing component of B. subtilis floating biofilms. In addition, we propose that this polysaccharide, when

		incorporated into the biofilm EPS, may also serve as a nutritional reserve.
	Objavljeno v	Public Library of Science; PloS one; 2013; Vol. 8, iss. 4; str. 1-10, e62044; Impact Factor: 3.730; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.514; A': 1; WoS: RO; Avtorji / Authors: Dogša Iztok, Brložnik Mojca, Stopar David, Mandič-Mulec Ines
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	4044408   Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Raznolikost sistema za zaznavanje kvoruma znotraj in med ekotipi bakterije <i>Bacillus subtilis</i>
		<i>ANG</i> The quorum sensing diversity within and between ecotypes of <i>Bacillus subtilis</i>
	Opis	<p><i>SLO</i> V tem delu avtorji pokažejo na povezave med ekološkimi značilnostmi bakterij in evolucijo sistema za medcelično signaliziranje (zaznavanje kvoruma) pri bakterijah. Zaznavanje kvoruma pri bakteriji <i>Bacillus subtilis</i> poteka s pomočjo ComQXPA sistema, ki je visoko polimorfen znotraj vrste in zato je signaliziranje med sevi iste vrste omejeno na komunikacijske tipe oziroma ferotipe. Med sevi enakega ferotipa komunikacija poteka, med sevi različnih ferotipov pa ne. Delo prvič pokaže, da se bakterijski sevi ene vrste (<i>Bacillus subtilis</i>), ki živijo na milimetrskih razdaljah v tleh, ločijo v tri ekološko različne skupine (ekotipe). Osnovno odkritje je, da znotraj enega ekotipa dominira en ferotip ob prisotnosti manjšinskih ferotipov. To kaže, da je komunikacija znotraj ekološko sorodnih sevov adaptivna. Na drugi strani pa dokažemo izmenjavo informacij med ekotipi in celo različnimi bakterijskimi vrstami.</p> <p>Delo je bilo objavljeno v prestižni reviji na področju okoljske mikrobiologije (IF=5,7) in je prvo, ki pokaže povezave med ekološkimi značilnostmi in medcelično komunikacijo bakterij ter postavi izhodišča in hipoteze za nadaljnje raziskave ekoloških dejavnikov socialne evolucije mikroorganizmov. Delo je bilo izpostavljeno kot pomembno v eminentni reviji FEMS Microbiology Ecology v povzetnem članku o ekološki vlogi diverzitete. Izsledki tega dela so bili predstavljeni leta 2012 na kongresu ISME-14, v Copenhagnu na Danskem, kjer je bil abstrakt izbran kot predavanje med 2000 kandidati in delno tudi že leta 2011 na kongresu ISME-13, v Seattlu ZDA, kjer je bil abstrakt ravno tako izbran kot predavanje med več kot 1700 abstrakti.</p>
		<i>ANG</i> This work explores the ecological context for evolution of quorum sensing diversity in bacteria, where social communication is limited to members of the same quorum sensing type (pherotype). We sampled isolates of <i>Bacillus subtilis</i> from soil on a microgeographical scale and identified three ecologically distinct phylogenetic groups (ecotypes) and three pherotypes. Each pherotype was strongly associated with a different ecotype. Each ecotype, however, contained one or more minority pherotypes shared with the other <i>B. subtilis</i> ecotypes and with more distantly related species taxa. The work published in an important journal (IF=5.7) is the first survey of pherotype diversity in relation to ecotypes proposing novel hypotheses for further testing the ecological drivers of social evolution. The work has been put forward as a significant scientific contribution in understanding the ecological role of diversity by FEMS microbiology ecology reviews. The importance of the work is also reflected in being selected as an oral presentation for the ISME congress in 2011 and 2013, among 1700 and 2000 contributed abstracts, respectively.
	Objavljeno v	Blackwell Science; Environmental microbiology; 2012; Vol. 14, no. 6; str. 1378-1389; Impact Factor: 5.756; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.384; A': 1; WoS: QU; Avtorji / Authors: Štefanič Polonca, Decorosi Francesca, Viti Carlo, Petito Janine, Cohan Frederick, Mandič-Mulec Ines



	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
4.	COBISS ID	4234360	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Napredna molekularna orodja za analizo mikrobnih združb in njihovih interakcij v rizosferi
		<i>ANG</i>	Advanced molecular tools for analysis of bacterial communities and their interactions in the rhizosphere
	Opis	<i>SLO</i>	Objavljeno poglavje v knjigi "Molecular microbial ecology of the rhizosphere", ki ga je izdala priznana mednarodna založba Wiley, povzema raziskave mikrobnih združb v rizosferi (območje tal tik ob korenini), ki temeljijo na najmodernejših molekularnih metodah za analizo nukleinskih kislin. Uporaba molekularnih metod je omogočila filogenetske analize mikroorganizmov, ki živijo v rizosferi in tleh ter razkrila, kateri mikrobi prevladujejo v tem okolju. V poglavju so izpostavljene študije, ki so prinesle nove poglede na mikrobnega dogajanja v rizosferi ter kako tip rastline oziroma fiziološko stanje rastline vpliva na sestavo mikrobne združbe v rizosferi. Poudarek je na interakcijah med mikrobi in rastlino in samimi mikrobi v tem habitatu. Predlagane so smernice za raziskave v prihodnosti, še posebej, kako naj bi interakcije in signaliziranje med mikroorganizmi v rizosferi vplivali na sestavo in funkcijo mikrobnih združb in zdravje ter rast rastlin.
		<i>ANG</i>	The chapter focuses on analysis of microbial communities of the plant rhizosphere, which has been driven by the greatly advanced DNA- or RNA-based molecular techniques. The application of these tools has allowed us to understand, at the phylogenetic level, which organisms occur together at the plant root. We can further infer, from the nucleic-acid-based data, which organisms may be positively or negatively selected by the plant root. On the other hand, using these very advanced tools, it has been difficult to discern the interactions that are a key to determining the intricacies of the life of root-associated microorganisms. The chapter examines the existing state of the art in this area, making use of case studies that illustrate the key achievements that have been made. Major points discussed are the intricacies of the use of environmental nucleic acids for the analyses, as well as the effects of plant physiology and plant type in shaping the plant-associated microbiota. In addition, we critically examine how to move forward in our examination of microbial interactions in the rhizosphere. It is vital that the emerging tools are now applied to dissect the interactions between microorganisms at the micrometer level, which is the scale at which microbial signals are perceived and obeyed.
	Objavljeno v	Wiley-Blackwell; Molecular microbial ecology of the rhizosphere; 2013; str. 115-124; Avtorji / Authors: Elsas Jan D., Mandić-Mulec Ines	
	Tipologija	1.16 Samostojni znanstveni sestavek ali poglavje v monografski publikaciji	
5.	COBISS ID	3897720	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Raznolikost endosporogenih bakterij v tleh
		<i>ANG</i>	Diversity of endospore - forming bacteria in soil
			Poglavje v knjigi povzema rezultate raziskav na področju raznolikosti aerobnih sporogenih bakterij v tleh, s poudarkom na bakterijah družine Bacillaceae. Slednje so tudi osrednja tematika pričujočega projekta. Sprva so te bakterije preučevali tradicionalno preko izolacije čistih kultur. Ti pristopi so pokazali visoko fiziološko raznolikost endosporogenih bakterij, ki se odraža tudi na nivoju ekosistemskih funkcij. Aplikacija od gojenja neodvisnih molekularnih metod pa je v zadnjem desetletju pokazala na izjemno visoko raznolikost sporogenih bakterij direktno v tleh in rizosferi. Delo izpostavi raziskave, ki te bakterije uporabljajo kot modele za preučevanje mehanizmov diverzifikacije in evolucije mikrobov v tleh in so

Opis	SLO	<p>že prinesle pomembna spoznanja o biogeografiji talnih mikroorganizmov in pokazale pomembno vlogo mikrobnih komunikacij in horizontalnega prenosa genov na evolucijo bakterij, diverzifikacijo ekotipov in na speciacijo.</p> <p>To je prvi pregled diverzitete endosporogenih bakterij v tleh, ki izpostavlja uporabnost in pomen teh ekološko in biotehnološko pomembnih organizmov za preverjanje temeljnih vprašanj ekologije in evolucije. Poglavje je del knjige znane založbe Springer, ki je povabila avtorico k sodelovanju pri nastajanju pomembne knjige "Endospore forming soil bacteria". Pomen dela je v tem, da poleg tega, da povzema objavljene rezultate, podaja tudi nove smernice za nadaljnje raziskave diverzitete in evolucije sporogenih bacilov, ki so ključne za razumevanje njihove biopesticidne in ekološke vloge.</p>
	ANG	<p>The chapter published by the eminent international publisher "Springer" focuses on diversity of aerobic spore-forming bacteria in soil. This was traditionally determined by physiological characterization of laboratory isolates indicating considerable physiological diversity, which reflects the wide variety of soil ecosystem functions carried out by these organisms. The application of cultivation-independent molecular techniques has now transformed studies of soil bacterial diversity and has uncovered much higher diversity in spore-formers than was previously anticipated. Aerobic spore-formers also provide excellent models for investigation of the mechanisms driving microbial diversity in soil. The article describes the insight that they are providing on biogeography of soil bacteria and the important roles of microbial communication, through signaling compounds, spatial scale and horizontal gene transfer on bacterial evolution, ecotype formation and speciation.</p> <p>This is the first comprehensive overview of the diversity of endospore-forming bacteria in soil. The chapter stresses their relevance as model organisms for ecological studies and their vast biotechnological potential. The chapter suggests new research directions in the field of diversity and evolution of spore-formers. It also brings out the importance of social interactions for understanding the ecology of these microorganisms.</p>
Objavljeno v	Springer; Endospore; 2011; str. 31-59; Avtorji / Authors: Mandić-Mulec Ines, Prosser James Ivor	
Tipologija	1.16 Samostojni znanstveni sestavek ali poglavje v monografski publikaciji	

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

Družbeno-ekonomski dosežek			
1.	COBISS ID	4259448	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	12. Simpozij bakterijske genetike in ekologije
		ANG	12th Symposium on Bacterial Genetics and Ecology
Opis	SLO	<p>Vodja projekta je predsedovala znanstvenemu odboru in tudi organizacijskemu odboru 12. mednarodnega kongresa BAGECO (Bacterial genetics and Ecology), ki je potekal junija 2013 v Ljubljani v hotelu Union. BAGECO je napomembnejši evropski kongres s področja mikrobne ekologije in genetike, ki poteka vsaki dve leti in ki se ga udeleži največ 300 raziskovalcev. Je kongres, ki odpira nove koncepte na področju ekologije mikroorganizmov in povabilo k organizaciji in predsedovanju tega kongresa je izredna čast in kaže na uveljavljenost vodje projekta na področju mikrobne ekologije. Kongresa (podrobnosti dostopne na strani <a href="http://www.bageco2013.org">http://www.bageco2013.org</a>) se je udeležilo več kot 300 raziskovalcev iz 50 držav sveta. Svoje dosežke in kritične poglede je predstavilo 13</p>	

		svetovno priznanih vabljenih predavateljev. Kongres je bil izredno uspešen in je domačim raziskovalcem odprl vrata za številne sodelave s svetovno priznanimi raziskovalnimi skupinami.
	ANG	The project leader was the chair of the scientific and organizing committee of the 12th Symposium on Bacterial Genetics and Ecology (BAGECO-12) which took place in Ljubljana, Slovenia, from 9-13 June 2013. BAGECO meetings are held biannually and have developed into one of the most important international conferences on bacterial ecology, with attendance limited to 300 participants and only one session so that participants can hear all the talks. A major motivation of the BAGECO meetings is to open new conceptual avenues leading to better understanding of the ecology and evolution of bacteria in the environment including molecular mechanisms of their interactions that are important for their survival and ecosystem functions. Further details are available at <a href="http://www.bageco2013.org">http://www.bageco2013.org</a> . To chair this event is an honor and also indicates that the project leader is well respected in the field of microbial ecology. The symposium was a success with more than 300 researchers attending the conference, which further opened the doors for collaborations with best research groups in the world.
	Šifra	B.02 Predsedovanje programskemu odboru konference
	Objavljeno v	Conventus Congressmanagement & Marketing; 2013; 150 str.; Avtorji / Authors: Mandić-Mulec Ines
	Tipologija	2.25 Druge monografije in druga zaključena dela
2.	COBISS ID	4065656 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Medcelično signaliziranje in raznolikost sevov vrste <i>Bacillus subtilis</i> na mikrorazdaljah
		ANG Cell-cell signaling and diversity of <i>Bacillus subtilis</i> at microscale
	Opis	SLO Dosežek predstavlja serijo vabljenih predavanj financiranih s strani Kitajskega sveta za raziskave. Vodja projekta je predavala na eminentni Univerzi Shanghai Jiaotong, na China Agricultural University, Beijing [COBISS.SI-ID 4065656], Nanjing Agricultural University, Department of Plant Pathology [COBISS.SI-ID 4066168]; in v okviru mednarodnega simpozija kot vabljena predavateljica: "Simposium on Biological Control of Plant Diseases, Nanjing, May 16, 2010 Nanjing, 2010 [COBISS.SI-ID 4067448]. Dosežek izkazuje mednarodno odmevnost raziskovalnega dela vodje projekta in zanimivost njenih raziskav tudi za področje interakcij rastlina:mikrob s strani tujih eminentnih znanstvenih ustanov in organizatorjev znanstvenih srečanj.
		ANG The achievement involves a series of invited lectures in China that were financed by Chinese research council. The proposed project leader lectured on quorum sensing at several of the most eminent Universities of China: the Shanghai Jiaotong Univerzi; the China Agricultural University, Beijing [COBISS.SI-ID 4065656], at the Nanjing Agricultural University, Department of Plant Pathology [COBISS.SI-ID 4066168]; and at the international conference: "Simposium on Biological Control of Plant Diseases, Nanjing, May 16, 2010. Nanjing, 2010, as an invited lecturer [COBISS.SI-ID 4067448]. The achievement shows the international importance of the project leader research work and its appeal to other eminent research institutions abroad.
	Šifra	B.04 Vabljeno predavanje
	Objavljeno v	China Agricultural University; 2010; Avtorji / Authors: Mandić-Mulec Ines
	Tipologija	3.14 Predavanje na tuji univerzi
3.	COBISS ID	3776376 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Zaznavanje kvoruma bakterije <i>Bacillus subtilis</i> v tleh

		ANG	Quorum sensing in Bacillus subtilis in soil
Opis		SLO	Dosežek je vezan na dolgoletno sodelovanje prjektne skupine in vodje tega projekta z Univerzo v Groningenu, Nizozemska, kjer je IMM predavala o socialnih interakcijah bakterij. To je utrdilo nadaljnje sodelovanje med univerzama tako na nivoju pedagoškega dela (npr. Microbial communication in soil and rhizosphere : lecture, presented at New frontiers in microbial ecology - Master course on microbial ecology, December 13, 2010, University of Groningen, The Netherlands. Groningen: University of Groningen, 2010. [COBISS.SI-ID 3889016] kot tudi na področju raziskav. IMM je tudi gostujoča profesorica na tej univerzi in sicer kot predavateljica v okviru MSc predmeta Mikrobna Ekologija in redno vabljen kot predavateljica v mednarodno šolo "New Frontiers in Microbial Ecology", ki se vsake dve leti izvaja na Nizozemskem.
		ANG	This achievement represents an invited to lecture given by prof. I. Mandić-Mulec at the Department of Biology, University of Groningen on quorum sensing. This lecture laid the ground long term collaboration, participation in an international course "New frontiers in microbial ecology: Master course on microbial ecology, December 13, 2010, University of Groningen, The Netherlands. Groningen: University of Groningen, 2010. [COBISS.SI-ID 3889016] and as the long term invited lecturer in the Master program of the Groningen university within the course "Microbial Ecology" and in the international school "New Frontiers in Microbial Ecology".
Šifra	B.05 Gostujoči profesor na inštitutu/univerzi		
Objavljeno v	University of Groningen, Biological Center; 2010; Avtorji / Authors: Mandić-Mulec Ines		
Tipologija	3.14 Predavanje na tuji univerzi		
4.	COBISS ID	4375672	Vir: COBISS.SI
Naslov		SLO	Socialno življene bakterije Bacillus subtilis
		ANG	Social life of Bacillus subtilis
Opis		SLO	Rezultate projekta smo predstavili na prestižni univerzi na Danskem, to je na Univerzi v Copenhagnu, na Oddelku za biologijo, kjer je IMM predstavila zadnje dosežke tega projekta in tiste, ki so bili objavljeni v reviji PNAS. Ob tem obisku je sodelovala tudi kot članica v komisiji za zagovor doktorata REN, Dawei. Synergistic interactions in multispecies biofilms : PhD thesis. Copenhagen: University of Copenhagen, Faculty of Science, Department of Biology, Section for Microbiology, 2014. 51 str., [93] str. pril., ilustr. [COBISS.SI-ID 4375928]
		ANG	IMM was a guest lecturer at the University of Copenhagen, where she presented the latest results of this project, covering recent publication in PNAS. She also contributed as a member of the thesis committee of REN, Dawei. Synergistic interactions in multispecies biofilms : PhD thesis. Copenhagen: University of Copenhagen, Faculty of Science, Department of Biology, Section for Microbiology, 2014. 51 str., [93] str. pril., ilustr. [COBISS.SI-ID 4375928]
Šifra	B.05 Gostujoči profesor na inštitutu/univerzi		
Objavljeno v	University of Copenhagen, Department of Biology; 2014; Avtorji / Authors: Mandić-Mulec Ines		
Tipologija	3.14 Predavanje na tuji univerzi		
5.	COBISS ID	4309112	Vir: COBISS.SI
Naslov		SLO	Ekologija socialnih interakcij bakterij
		ANG	Ecology of bacterial social interactions
			V okviru vabljenega predavanja na konferenci "Power of microorganisms in

Opis	SLO	industry and environment" smo predstavili adaptacije bakterije <i>Bacillus subtilis</i> na življenje v tleh in rizosferi s poudarkom na socialnih interakcijah in v vlogi biopesticida. Predstavili smo povezavo med ekotipi in ferotipi pri talnih izolatih ter pomen le te za njihovo biopesticidno učinkovitost. Predstavili smo tudi zadnje rezultate vezane na interakcije med rastlino in bakterijo ter govorili o regulatorni vlogi, ki jo lahko sistem za zaznavanje kvoruma ComQXPA igra kot povezovalni člen med primarnim in sekundarnim metabolizmom ter tako stabilizira kooperacijo in evolucijo sistema za zaznavanje kvoruma.
	ANG	At this invited lecture given by prof. I. Manič-Mulec and the international conference "Power of microbes in industry and environment" we presented our latest results focusing on the life of <i>Bacillus subtilis</i> in soil and rhizosphere with emphasis on social life and biopesticide potential. We also presented our results on the distribution of ecotypes and phenotypes and how they connect to various interesting traits of <i>B. subtilis</i> that are important for biopesticide activity. We also discussed our latest results on swarming and on the regulatory link of the quorum sensing system between primary and secondary metabolism, which contributes to the evolutionary stability of QS.
Šifra	B.04 Vabljen predavanje	
Objavljeno v	Croatian Microbiological Society; Power of microbes in industry and environment 2013; 2013; Str. 17, IL 2; Avtorji / Authors: Mandić-Mulec Ines, Oslizlo Anna, Štefanič Polonca, Dogša Iztok, Kraigher Barbara, Rupnik Maja, Dreo Tanja, Ravnikar Maja	
Tipologija	1.10 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljen predavanje)	

## 8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine<sup>7</sup>

- Rezultati projekta so odmevali v širši javnosti:
  - MANDIĆ-MULEC, Ines (intervjuvanec), OS Lizlo, Anna, ŠTEFANIČ, Polonca, DOGŠA, Iztok, JOŠT, Petra. Bakterije ne morejo goljufati oddaja Prvi dnevnik, 1. program TV Slovenija, 20. feb. 2014. Ljubljana; TV Slovenija, 2014. <http://4d.rtv slo.si/arhiv/prispevki-in-izjave-prvi-dnevnik/174262209>. [COBISS.SI-ID 4371576]
  - MANDIĆ-MULEC, Ines (intervjuvanec). S pomočjo mikrobov lahko zmanjšamo uporabo pesticidov : biologi iščejo mikrobe, ki jih je mogoče uporabljati za zaščito rastlin : [intervju s prof. dr. Ines Mandić Mulec]. Finance, ISSN 1318-1548, 27. avg. 2013, št. 164, str. 24. [COBISS.SI-ID 4285560]
- Predavanja na tuji univerziah: 2014. Copenhagen: University [COBISS.SI-ID 4375672] ; University of Groningen, Biological Center, 2010. [COBISS.SI-ID 3776376].
- Uredništvo: Frontiers in terrestrial microbiology. Mandić-Mulec, Ines (član uredniškega odbora 2010-). [COBISS.SI-ID 3834232].
- Članek "ComQXPA quorum sensing systems may not be unique to *Bacillus subtilis*: a census in prokaryotic genomes" avtorjev Dogša in sod, 2014, je bil ravnokar sprejet v objavo v priznani reviji Plos one in še ni zaveden v COBISS. Članek je nastal v sodelavi s skupino iz ICGEB iz Trsta, in razkrije nove bakterijske vrste iz debla Firmicutes , ki nosijo zapis za komunikacijski sistem ComQXPA, kar je ključna tematika tega projekta.

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

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

SLO

Medcelično signaliziranje bakterij je pomembno tudi za optimizacijo postopkov, pri katerih uporabljamo bakterije kot produkcijske organizme, kot biopesticide ali kot probiotike. Uravnava tudi virulenco številnih bakterij. V okviru projekta "Ekologija socialnih interakcij bakterije *Bacillus subtilis*" smo preučevali medcelično signaliziranje te bakterije in sorodnikov. Osredotočili smo se na komunikacijski sistem za zaznavanje celične gostote (kvoruma) ComQXPA, ki je izredno zanimiv zaradi visokega polimorfizma znotraj vrste. Ta poveča specifičnost odziva in prepreči komunikacijo med različnimi komunikacijskimi tipi (ferotipi) znotraj vrste. Z uporabo in vitro in in situ modelnih sistemov smo v okviru projekta prvi na svetu pokazali, da so ferotipi deloma pogojeni z ekološkimi značilnostmi bakterij, ki nosijo zapis za posamezni komunikacijski tip in s tem poglobili razumevanje vzrokov za funkcionalno segregacijo v ferotipe (Štefanič in sod., *Env. Microbiol.*, 2012). Ugotovili smo, da poleg ferotipov obstajajo tudi druge komunikacijske bariere znotraj vrste *B. subtilis*, ki omogočajo prepoznavanja lastnih potomcev in s tem odprli povsem novo področje raziskav na področju komunikacije po Gramu pozitivnih bakterij. Preučili smo tudi variabilnost sistemov ComQXPA v sekvenciranih genomih bakterij, ki so dostopni v bazah podatkov in ugotovili, da obstajata znotraj debela Firmicutes dve skupini bakterij, ki nosijo genetski zapis za ortologe ComQXPA (Dogša in sod., *Plos one*, članek sprejet v objavo). Verjamemo, da bodo naši rezultati vzpodbudili nadaljnje raziskave ComQXPA komunikacijskih sistemov tudi pri drugih bakterijskih vrstah. V soavtorstvu z ameriškim laboratorijem smo sekvencirali genom našega izolata PS216 (Durett in sod., 2013), ki je tako postal zanimiv kot modelni organizem za širšo znanstveno skupnost, še posebej ker je naravno kompetenten in zato ga je enostavno genetsko manipulirati. Objavili smo tudi dve poglavji v mednarodnih knjigah, kjer smo izpostavili ekološki pomen naših raziskav in vlogo *B. subtilis* v rizosferi rastlin. Svoje raziskave smo predstavili na številnih mednarodnih kongresih, zelo pogosto kot vabljeni predavatelji ali pa kot izbrani med več kot 1000 delegati, kar potrjuje pomen naših rezultatov v svetovnem obsegu. Med prvimi na svetu smo izpostavili vlogo bakterijskega komuniciranja kot povezovalnega člena med primarnim in sekundarnim metabolizmom ter prvič pokazali, da sinteza signala v celici regulira zunajcelični odziv na ta signal. Te rezultate smo objavili v eni najbolj priznanih revij na svetu (*Oslizlo in sod.*, *PNAS*, 2014), kar dodatno potrjuje pomen naših rezultatov za razvoj znanosti. Prvi smo tudi pokazali (Dogša in sod., 2013), da je sestava zunajceličnega matriksa biofilmov bakterije *B. subtilis* odvisna od sestave gojišča in da prisotnost saharoze sproži zelo močno sintezo polisaharida levana, ki pomembno prispeva k debelini in trdnosti biofilma. To pa pomeni, da bomo v kombinaciji z že obstoječim komplementarnim znanjem sposobni bolje obvladovati biofilm v danem okolju. Rezultate projekta smo objavili v znanstvenih revijah, ki so med najboljšimi na svetu, rezultati tega projekta so citirani v najboljših revijah in vodja projekta je bila vabljena na tuje univerze in mednarodna znanstvena srečanja kot predavateljica in k sodelavam s strani najboljših skupinami na svetu (UCSD- ZDA, Harvard, Oxford, Copenhagen University, Groningen University, Aberdeen University), kar kaže na pomen našega dela za razvoj znanosti v svetovnem merilu. *Bacillus* je komercialno izredno pomembna bakterija, zato imajo naše raziskave daljnosežen pomen za razvoj aplikacij v biotehnologiji in razvoju sonaravnih postopkov za zaščito rastlin in živali.

ANG

Bacterial intercellular signaling is essential for coordination of survival strategies at the population level and understanding of this process is important for optimization of procedures applying bacteria as production organisms in industry, as probiotics for human health and husbandry or as biopesticides in agriculture. The project 'Ecology of social interactions of *Bacillus subtilis* aimed to understand bacterial communication by focusing on the ComQXPA quorum sensing (QS) system. This QS system is especially interesting due to its high polymorphism, which increases the specificity of the response and prevents communication between strains of different communication types (pherotypes). Using in vitro and in situ models, we showed for the first time that pherotypes strongly correlate with ecotypes broadening our understanding of evolutionary forces contributing to diversification of pherotypes (Štefanič et al., *Env. Microbiol.*, 2012). In addition we bring through a bioinformatics analysis a novel insight into the distribution of ComQXPA QS systems in sequenced bacterial genomes (Dogša et al., *PloS one*, in press). We believe that this will encourage research of ComQXPA QS systems in other bacterial species. In co-authorship with an american laboratory, we sequenced the genome of our isolate PS216 (Durett et al., 2013), which makes it more interesting as a model organism for a wider scientific community, especially because this strains is also naturally competent and thus amenable for genetic manipulation. We also published two chapters in international books highlighting the ecology of Bacillacea and the role of *B. subtilis*

in soil and rhizosphere. Frequent invitations and selection of our work as contributed talks, often selected among 1700 or more abstracts at international conferences, suggests a broad appeal and importance of the project results. Recently we also succeeded to highlight a role of bacterial communication as an interface between primary and secondary metabolism and for the first time demonstrated that the private signal synthesis is coupled to the response induced by the secreted signal. The results were published in one of the most respected scientific journals in the world (Oslizlo et al., PNAS, 2014). We expanded the knowledge on biofilms by contributing an in depth analysis of extra-cellular matrix (EPS) chemical composition and were the first (Dogša et al., 2013) linking the growth medium composition, matrix composition and biofilm strength. The results of the project were published in prestigious journals, often cited and indicated as important in several opinion articles. Therefore we believe that project results importantly contributed to the development of science, especially as they bridge several scientific fields (gene regulation of *Bacillus subtilis*, social evolution, microbial ecology and structure-function studies of biologically active compounds). The scientific importance of the project is also reflected in increased interest of the best teams in the world (UCSD - USA, Harvard, Oxford, University of Copenhagen, University of Groningen, University of Aberdeen) to collaborate with us. *Bacillus* is commercially highly important; therefore, our research has a far-reaching significance for the development of biotechnological applications and sustainable procedures focussing on plant growth promotion and crop protection.

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

SLO

Cilji projekta 'Ekologija socialnih interakcij pri bakteriji *Bacillus subtilis*' so bili tesno vezani na bazična vprašanja, ki so na meji znanega v naravoslovju in naslavlja molekularne zakonitosti bakterijskega komuniciranja. V okviru projekta smo preučevali ekologijo in evolucijo bakterijskega komuniciranja; mehanizme, ki ohranjajo sodelovanje med mikroorganizmi; vplivajo na strukturiranost in fizikalno-kemijske lastnosti biofilmov. Tematika je izredno zanimiva in ima številne aplikacije in pomen v industriji, v kmetijstvu ter zdravju ljudi in živali. Zastavljeni cilji so bili doseženi, najpomembnejše za Slovenijo je objava rezultatov v najprestižnejših znanstvenih revijah in dobra citiranost nedavno objavljenih rezultatov. Skozi raziskave, vezane na ta projekt, nam je uspelo vstopiti v sam vrh svetovne znanosti, vzpostaviti nove trdne povezave in ohraniti že obstoječe s številnimi najprestižnejšimi inštitucijami na svetu kot so UCSD- ZDA, Harvard-ZDA, PHRI-ZDA, Oxford-UK, Copenhagen Uni-Danska, Groningen Uni-Nizozemska, Aberdeen Uni-UK, ICGBE-Trst. Odličnost potrjuje tudi 1) izbor naših raziskav kot predavanj na mednarodnih kongresih, 2) vabila na tuje univerze in v mednarodne doktorske komisije, 3) povabilo k sodelavi v okviru projekta TRANSMIT -Horizon 2020 (projekt ETM naslavlja mikrobne komunikacije in večvrstne biofilme s ciljem vzgojiti novo generacijo strokovnjakov, ki bodo aplicirali znanja o mikrobem komuniciranju v industriji in kmetijstvu). V letu 2013 smo tudi organizirali najpomembnejši mednarodni simpozij na področju ekologije in genetike bakterij (BAGECO-12), kjer je bila vodja projekta I. Mandič Mulec predsednica organizacijskega in znanstvenega odbora. Kongres je v Ljubljano pripeljal 300 delegatov iz vsega sveta, med katerimi so bili številni najpomembnejši strokovnjaki s področja in je požel zanimanje tudi širše javnosti. Rezultati raziskave objavljene v PNAS o mehanizmih, ki prerečujejo goljufanje pa so vzpodbudili zanimanje TV- Slovenija, ki je posnela oddajo o tem članku. Dosežki projekta so bili tudi redno vključevani v pedagoški proces v okviru Univerzitetnih študijev Mikrobiologija in Biotehnologija ter doktorskih študijev Biomedicina in Bioznanosti. Projekt je tako pomembno prispeval k nastanku 4. diplom, enega magisterija in ene doktorske disertacije A. Oslizlo, ki jo bo kandidatka zagovarjala v letošnjem letu. Projekt je bil tudi pomemben za vzpostavitev povezav doma, saj smo skozi le-tega navezali močnejše stike s skupino M. Rupnik (NLZOH) in s skupino I. Poberaja na FMF-UL.

ANG

The objectives of the project 'Ecology of social interactions in *Bacillus subtilis*' were closely related to basic questions at the forefront of natural sciences addressing molecular mechanisms of bacterial communication, ecology and social evolution. We aimed to understand bacterial communication and the mechanisms that maintain cooperation between microorganisms. We also focused on biofilms, their structure, physico-chemical properties and forces affecting signal diffusion in this high cell density structures. This topic is very interesting and has many significant applications for industry, agriculture and human and animal health. The aims of the

project have been achieved and we consider the most important achievement of the project that our work was published in the most prestigious scientific journals and has been already well cited. The project provided the route to establish and maintain strong links with many prestigious institutions in the world such as UCSD -USA, Harvard -USA, PHRI -USA, Oxford -UK, Copenhagen Uni.- Denmark, Groningen Uni. - Netherlands, Aberdeen Uni. -UK, ICGBE - Trieste. Excellence is also confirmed by 1) the selection of our research to be presented at international congresses, 2) invitations to foreign universities and international doctoral commissions, 3) the invitation to IMM to be a partner and WP coordinator in the project TRANSMIT - Horizon 2020 (ETM project addresses microbial communication and multispecies biofilms with the aim to educate a new generation of professionals who will be able to apply knowledge of social microbiology in industry and agriculture). In 2013, we also organized a major international symposium on the ecology and genetics of bacteria (BAGECO - 12), which was presided and organized by prof. I. Mandič - Mulec. This conference brought to Ljubljana more than 300 delegates from all over the world including the most important experts in the field. Achievements of the project have been incorporated into undergraduate and graduate theoretical and practical courses at the University of Ljubljana. The project was linked to 4 undergraduate thesis, one master thesis and a doctoral dissertation of A. Oslizlo, who will defend her thesis this year. The project was also important to strengthen the working connections in Slovenia, through ongoing links with the group of M. Rupnik (NLZOH) and the group of I. Poberaj at FMF-UL.

**10.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!  
Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri 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 upravljavskih 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 in podoktorske projekte iz gospodarstva!**  
**Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja**

	<b>Vpliv</b>	<b>Ni vpliva</b>	<b>Majhen vpliv</b>	<b>Srednji vpliv</b>	<b>Velik vpliv</b>	
<b>G.01</b>	<b>Razvoj visokošolskega 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="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="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="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>					
<b>G.06.</b>	<b>Varovanje okolja in trajnostni razvoj</b>					
<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>					
<b>G.09.</b>	<b>Drugo:</b>					

**Komentar**

--

**12.Pomen raziskovanja za sofinancerje<sup>11</sup>**

Sofinancer		
1.	Naziv	
	Naslov	
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:	%

Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
Komentar		
Ocena		

### 13. Izjemni dosežek v letu 2013<sup>12</sup>

#### 13.1. Izjemni znanstveni dosežek

Članek v eminentni reviji (IF 9.7):

OSLIZLO, Anna, ŠTEFANIČ, Polonca, DOGŠA, Iztok, MANDIČ-MULEC, Ines. Private link between signal and response in *Bacillus subtilis* quorum sensing. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, ISSN 0027-8424, 2014, vol. 111, no. 4, str. 1586-1591, ilustr., doi: 10.1073/pnas.1316283111. [COBISS.SI-ID 4358008].

Ugotovili smo, da pri bakteriji *Bacillus subtilis* obstaja znotrajcelična povezava med produkcijo signala za zaznavanje celične gostote (ang. quorum sensing - QS) ComX in odzivom na ta signal. Celice, ki ne proizvajajo signala (QSS-), postanejo preobčutljive na ComX: če ga dodamo v gojišče, proizvajajo povečano količino sekundarnih metabolitov (surfaktin), kar negativno vpliva na njihov fitness. Naša študija prinaša nov pogled na regulacijo sistema za zaznavanje celične gostote in ponuja razlago za evolucijsko stabilnost QS sistema bakterije *Bacillus subtilis* in verjetno tudi drugih grampozitivnih bakterij.

#### 13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Organizacija mednarodnega kongresa Bacterial genetics and ecology BAGECO-12 z več kot 300 udeleženci v Ljubljani, kjer je bila osnovna tematika kongresa tesno vezana na tematiko projekta. Kongres je bil najuspešnejši med kongresi BAGECO do sedaj.

## 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 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:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba  
raziskovalne organizacije:*

in

*vodja raziskovalnega projekta:*

Univerza v Ljubljani, Biotehniška  
fakulteta

Ines Mandič Mulec

**ŽIG**

Kraj in datum: 

Ljubljana	15.4.2014
-----------	-----------

## Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/29

---

- <sup>1</sup> Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)
- <sup>2</sup> Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)
- <sup>3</sup> Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)
- <sup>4</sup> V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)
- <sup>5</sup> Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)
- <sup>6</sup> Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.
- Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.
- Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)
- <sup>7</sup> Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). 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 / prepisite 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](#)
- <sup>12</sup> Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2013 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2014 v1.03  
23-20-2A-8A-0A-DD-AF-96-C2-15-56-E6-F1-8D-C9-E3-79-78-18-7D

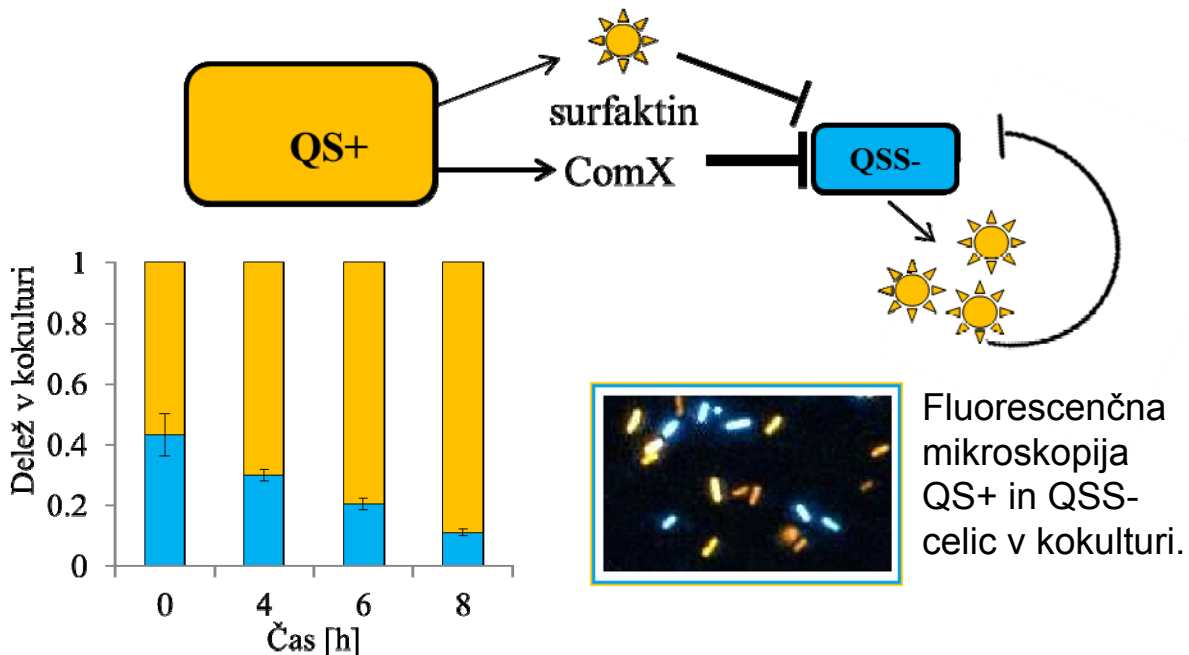
## **Priloga 1**



# VEDA BIOTEHNIKA

Področje: 4.03 Rastlinska produkcija in predelava

## Dosežek 1: Privatna povezava med signalom in odzivom na zaznavanje kvoruma bakterije *Bacillus subtilis*



- QS+ bakterije, ki sintetizirajo signal .
- QSS- goljufive mutante, ki ne sintetizirajo signala a v prisotnosti QS+ celic sintetizirajo prekomerno količino surfaktina, ki zavre njihovo rast.

Raziskava, objavljena v eni najbolj priznanih znanstvenih revij na svetu (pet letni IF 10.5), prvič razkrije privatni oz. znotraj celični molekularni mehanizem pri bakteriji *Bacillus subtilis*, ki "kaznuje goljufe" medceličnega signaliziranja. Goljufive bakterije so tiste, ki same ne proizvajajo signalov temveč jih "kradejo" bližnjim celicam. Odkrili smo, da se signalne mutante (QSS-) na signal bližnjih celic (QS+) prekomerno odzivajo in posledično sintetizirajo več lipopeptidnega antibiotika surfaktina. Mutante končajo kot poraženke, ker so na surfaktin bolj občutljive kot producentke signala. Mehanizem tako izloči goljufe in utrdi sodelovanje med člani skupnosti. Naša študija prinaša nov pogled na medcelično signaliziranje bakterije *Bacillus subtilis* in ponuja razlago za evolucijsko stabilnost kemičnega signaliziranja pri tej in verjetno tudi pri drugih po Gramu pozitivnih bakterijah. Raziskava je dodatno zanimiva tudi zato, ker je bakterija *Bacillus subtilis* v uporabi kot biopesticid; pomembna kot producent antibiotikov, vitaminov, industrijskih encimov ter znana kot probiotik. Poleg tega *Bacillus* tvori spore, najbolj trdožive dormantne celice na našem planet.

**Vir: Anna Oslizlo, Polonca Štefanič, Iztok Dogša, Ines Mandić-Mulec. Private link between signal and response in *Bacillus subtilis* quorum sensing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (2014) 111(4): 1586 -91.**

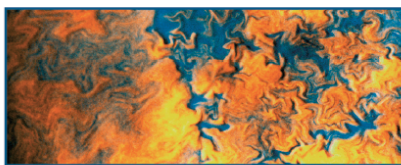

## **Priloga 2**

BIOTEHNIKA


Področje: 4.06 –Rastlinska produkcija in predelava

Dosežek 2: Organizacija mednarodnega simpozija BAGECO 12

Avtorji: prof. dr. Ines Mandič-Mulec



**NETWORKING AND  
PLASTICITY OF  
MICROBIAL  
COMMUNITIES:  
THE SECRET TO SUCCESS**



**9-13 June 2013  
Ljubljana, Slovenia**

Kot družbeni dosežek projekta Ekologija socialnih interakcij izpostavljam tudi eminentno srečanje mikrobni ekologov: mednarodni simpozij BAGECO-12 v Ljubljani, junija 2013, ki mu je predsedovala vodja projekta Prof. dr. Ines Mandič Mulec.. Simpozij je bil izredno uspešen in je v Ljubljano privabil 336 raziskovalcev iz 51držav sveta, ki so prispevali k ustvarjalnemu ozračju z 279 abstrakti in 48 predavanji. Glavna tematika kongresa se odraža v podnaslovu kongresa: “Mreženje in plastičnost mikrobni združb: skrivnost uspeha” s katerim smo želeli poudariti pomen mikrobni interakcij za delovanje ekosistema in sonaravno ohranjanje okolja ter hkrati izpostaviti pomen sodelovanja tudi med raziskovalci vsega sveta. V okviru kongresa so bila vključena naslednja področja: Evolucija in horizontalni genski prenos prokariontov; Sociomikrobiologija in mreženje znotraj mikrobni združb; Mikrobne interakcije z evkariontskimi organizmi; Ekofiziologija; Koristni mikrobi; Mikrobni odzivi na antropogene vplive.