



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	Z4-2225
Naslov projekta	MOLEKULSKA ANALIZA REGIJE KROMOSOMA, ODGOVORNE ZA RAZVOJ SPOLA PRI HMELJU (<i>Humulus lupulus</i> L.)
Vodja projekta	22591 Suzana Škof
Tip projekta	Zt Podoktorski projekt - temeljni
Obseg raziskovalnih ur	3400
Cenovni razred	A
Trajanje projekta	03.2011 - 08.2012
Nosilna raziskovalna organizacija	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.03 Rastlinska produkcija in predelava 4.03.01 Kmetijske rastline
Družbeno-ekonomski cilj	13.04 Kmetijske vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)

2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	4.04
- Veda	4 Kmetijske vede
- Področje	4.04 Kmetijska biotehnologija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Povzetek raziskovalnega projekta²

SLO

Hmelj je dvodomna rastlina, ki ima $2n=20$ kromosomov z dvema spolnima kromosomoma z domnevnim XY mehanizmom. Moške in ženske rastline so morfološko enake, razlikujejo se le po generativnih organih. Pridelovanje hmelja v Sloveniji je pomembna kmetijska panoga. Hmeljišča pokrivajo relativno majhno površino (okrog 1500 ha), vendar predstavljajo pomemben zaslužek za

pridelovalce. Hmeljišča v Sloveniji predstavljajo 3,1% vseh površin hmelja na svetu oz. 5,7% svetovnih površin z aromatičnimi kultivarji. Gospodarsko pomembne so le ženske rastline, moške se uporabljajo samo v procesu žlahtnjenja za vzgojo novih kultivarjev. Pridelek hmelja predstavljajo hmeljni storžki, ki so tehnološko zrela neoplojena ženska socvetja in se uporabljajo predvsem pri varjenju piva. Hmelj pa se uveljavlja tudi kot vir farmacevtsko zanimivih učinkovin, kot sta npr. ksantohumol z antikarcinogenimi učinki in fitoestrogen 8-prenilnaringenin. Žlahtnitelji in hmeljna industrija so izredno zainteresirani za razvoj novih tehnologij, ki bi lahko dolgotrajne postopke izboljšave kultivarjev (okrog 10 let) skrajšale in povečale njihovo učinkovitost. Razrešitev mehanizmov določanja spola in uporaba le-teh bi bila lahko pomembno orodje v nadaljnjih žlahtniteljskih programih. Zgodnje razlikovanje spola je zaželeno pri mnogih agronomsko pomembnih rastlinah, kjer imajo rastline enega spola boljše agronomске lastnosti kot rastline drugega spola.

V prvem sklopu projekta smo preučili povezavo med ploidnostjo in izražanjem spola pri enodomnih rastlinah hmelja, kjer na isti rastlini najdemo tako ženska kot moška socvetja. S pretočno citometrijo smo izmerili ploidnost 58 enodomnih potomcev različnih križanj diploidnih staršev. Med njimi smo ugotovili visok delež triploidnih rastlin. Vsi triploidi so bili pretežno moške rastline z nekaj ženskimi cvetovi in ta fenotip je bil prisoten samo med triploidi, kar kaže na najverjetnejšo povezanost tega fenotipa s triploidnostjo. Vse preostale enodomne rastline so bile diploidne, z izjemo rastline, ki je imela najvišjo izmerjeno vsebnost jedrne DNA in je s citološko analizo pokazala aneuploidno število kromosomov. Moške rastline so imele najnižjo vsebnost jedrne DNA. V delu raziskave o A, B, C, E skupini genov iz MADS-box genske družine, ki kontrolirajo razvoj cvetnih organov, smo s PCR reakcijo v realnem času identificirali različno izražanje domnevnega C gena (*Agamous* homolog) in domnevnega E gena (*Sepallata3* homolog) v ženskih in moških rastlinah hmelja v različnih fazah oblikovanja cvetnih popkov. V zadnjem delu projekta smo identificirali štiri nove DArT («Diversity array technology») markerje za moški spol pri hmelju. S PCR reakcijo smo pomnoževali fragmente v 123 ženskih in 44 moških hmeljnih rastlinah iz različnih geografskih lokacij. Štirje novi DArT markerji so se pomnoževali izključno v moških rastlinah in se bodo lahko direktno uporabljali v žlahtniteljskih programih hmelja za zgodnje razlikovanje spola hmeljnih rastlin.

ANG

Hop is a dioecious plant with $2n=20$ chromosomes, where two sex chromosomes are responsible for the tentative XY mechanism. Female and male hop plants are morphologically indistinguishable; they differ only in generative organs. Hop growing in Slovenia is one of the most important agricultural activities. Hop gardens cover a relatively small acreage (1500 ha of hop trellis) but the yield is of high value and it has provided good income to hop farmers. Hop fields in Savinja valley represent 3.1% of total world hop-growing areas and 5.7% of aroma hop varieties gardens worldwide. Only female hop plants, producing cones, are of commercial interest, while male plants are not wanted in cultivation, since fertilized cones decrease the crop quality and are only used for breeding purposes. Female mature inflorescences (cones) have commercial value in brewing industry. Recently, its potential as a source of pharmaceutically interesting compounds, such as xanthohumol with anticarcinogenic properties and a potent phytoestrogen 8-prenylnaringenin, has also been addressed. Breeders and the hop industry are extremely interested in the development of new technologies that could shorten the procedure of the improvement and selection of new cultivars and make it more efficient. Deciphering the sex mechanism and its further manipulation could be a valuable new tool in basic research or in breeding programs. Early determination of sex in the juvenile stage of plants is desired in many crops, since plants of one gender have superior agronomic traits to those of the other.

Firstly, the possible correlation between ploidy and type of sex expression in monoecious hop plants (female and male flowers on the same plant) was investigated. We assessed the ploidy of 58 monoecious plants, progenies of various crosses of diploid parents. Flow cytometric analysis revealed a high percentage of triploids. The predominantly male phenotype with a few female cones appears to be linked to triploidy in monoecious hops, since this phenotype was found only among triploid intersexes, and vice versa. All other monoecious plants were diploid, except for one genotype with the highest nuclear DNA content, which showed an aneuploidic number of chromosomes. Male hops had the lowest DNA amount. In the second part identification of homologous sequences to ABCE floral organ-identity genes of the MADS-box gene family in hop was carried out and real-time PCR revealed different expression patterns of a putative C gene (*Agamous* homolog) and a putative E gene (*Sepallata3* homolog) in female and male flower buds

in different developmental stages. Four new DArT (Diversity array technology) markers linked to male sex in hop were identified. PCR was carried out on 123 female and 42 male plants from a broad range of geographic locations. These four markers amplified only in males and could be directly used in hop breeding programmes for early discrimination of sex in hop.

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

ENODOMNE RASTLINE HMELJA IN IZRAŽANJE SPOLA:

Pri sicer dvodomnem hmelju se občasno pojavijo enodomne rastline, kjer na isti rastlini najdemo hkrati ženske in moške cvetove. Pojav enodomnih rastlin pri hmelju naj bi bil posledica bodisi triploidnega, tetraploidnega ali aneuploidnega števila kromosomov (Haunold 1971; Shephard in sod. 2000). Želeli smo preučiti povezavo med ploidnostjo enodomnih rastlin in izražanjem spola pri njih. S pretočno citometrijo smo izmerili vsebnost jedrne DNA v 58 enodomnih (ženska in moška socvetja na isti rastlini) rastlinah hmelja, potomcih različnih družin križanj diploidnih staršev. Poleg tega smo izmerili vsebnost DNA tudi v petih ženskih kultivarjih (di-, tri- in tetraploidnih) in dveh moških linijah (diploidnih) hmelja, ki so nam služili kot kontrole. Z morfološkim ocenjevanjem smo enodomne rastline razdelili v šest razredov glede na delež izražanja ženskih in moških cvetov: od pretežno ženskih rastlin z nekaj moškimi cvetovi preko rastlin s približno enakim deležem tako moških kot ženskih cvetov do pretežno moških rastlin z nekaj ženskimi cvetovi. Odkrili smo visok delež triploidnih rastlin (41%) in analiza dedovanja alelov s pomočjo šestih kodominantnih mikrosatelitnih markerjev je pokazala, da so bile nereducirane gamete kot vzrok pojavnosti triploidnosti pri enodomnih potomcih pretežno očetovskega izvora (v 84%). Pretežno moški fenotip z nekaj ženskimi cvetovi (Mf fenotip) je verjetno povezan s triploidnostjo pri enodomnem hmelju, saj so bile vse rastline tega fenotipa triploidne kakor tudi vsi triploidi istega fenotipa. Pri preostalih kategorijah enodomnih rastlin smo potrdili diploidnost tako z merjenjem vsebnosti jedrne DNA s pretočno citometrijo kot tudi s citogenetsko analizo števila kromosomov v celicah koreninskih vršičkov pod mikroskopom. Z izjemo specifične enodomne rastline z najvišjo izmerjeno vsebnostjo jedrne DNA s pretočno citometrijo, v katere celicah smo prešteli aneuploidno število kromosomov (21 kromosomov). Pri diploidnih enodomnih hmeljih nismo odkrili jasne povezave med tipom izražanja enodomnosti in vsebnostjo jedrne DNA, razen dejstva da so moške rastline imele najnižjo vsebnost jedrne DNA, izmerjeno tako z AT specifičnim flurokromom DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) kot interkalarnim barvilom propidijevim jodidom. Izračunana vsebnost AT baz v hmelju je bila nekoliko višja v moških kot ženskih rastlinah (63.0% vs. 62.5%), kar uvršča hmelj med rastline z višjo vsebnostjo AT baz.

A, B, C, E SKUPINA GENOV:

Dvodomne rastline bi lahko na relativno preprost način kontrolirale razvoj ženskih in moških spolnih organov v ženskih in moških cvetovih z diferencialno regulacijo izražanja A, B, C, E sistema genov iz MADS-box genske družine, ki kontrolirajo razvoj cveta, še posebej B in C genov, ki regulirajo oblikovanje prašnikov in pestiča (Theissen 2001). Za B in C gene je bilo dokazano diferencialno izražanje v več rastlinskih vrstah s spolnim polimorfizmom, vendar ni znano, ali imajo B in C geni vzročno vlogo pri določanju spola. S programsko opremo ClustalW smo poravnali zaporedja aminokislin proteinov, ki jih kodirajo že znani A, B, C in E geni in njihovi homologi v drugih rastlinah (*Arabidopsis thaliana*, *Carica papaya*, *Silene latifolia*, *Brassica* sp. idr.) in na podlagi primerjave ohranjenosti sekvenc izdelali degenerirane začetne oligonukleotide. Z RT-PCR in PCR reakcijo smo z degeneriranimi začetnimi oligonukleotidi pomnožili fragmente cDNA oz. DNA iz hmeljnih rastlin in jih sekvenirali. Izbrali smo sekvence hmelja, ki so z BLAST orodjem pokazale največjo podobnost z že znanimi A, B, C in E geni iz drugih rastlin in na podlagi teh sekvenc naredili specifične začetne oligonukleotide za dva domnevna B gena *Apetala3* (*AP3*) in *Pistillata* (*PI*), en domneven C gen *Agamous* (*AG*) in en domneven E gen *Sepallata3* (*SEP3*). Izolirali smo RNA iz dveh ženskih, dveh moških in dveh enodomnih rastlin hmelja v različnih časovnih obdobjih od nastavka cvetnih brstov do faze odprtih cvetov v dveh rastnih sezonah. Kot negativna kontrola (A, B, C in E skupina genov, ki kontrolirajo razvoj cvetnih organov se v listih ne izražajo) je bila izolirana RNA iz listov zgoraj naštetih rastlin. S PCR reakcijo v realnem času smo primerjali relativno izražanje gena (količino mRNA oz. cDNA) v moških in ženskih rastlinah v različnih časovnih obdobjih oblikovanja cvetnih popkov. Za normalizacijo relativne količine PCR produkta v hmeljnem tkivu je bilo preizkušenih devet referenčnih vzdrževalnih (»housekeeping«) genov in s programom geNorm izbrani trije najbolj stabilni (CAC, DRH1 in YLS8). Kot je že znano iz literature, se je pokazalo,

da je potrebno za kakovostne rezultate PCR v realnem času preizkusiti različne housekeeping gene ne samo specifično za vsako rastlinsko vrsto, pač pa tudi za različne tipe tkiv, saj se referenčni geni, ki so bili v naši raziskovalni skupini že preizkušeni na drugih tipih tkiv pri hmelju, niso izkazali kot stabilni v cvetnem brstih hmelja. Kot negativna kontrola je bila uporabljena RNA izolirana iz listov istih rastlin. Domnevni C gen (*AG* homolog) v hmelju se v začetnih fazah razvoja cvetnih brstov ni izražal ne pri ženskih ne pri moških rastlinah. Pri ženskih rastlinah je relativna količina produkta začela počasneje naraščati, dosegla vrh v času odpiranja cvetov in potem padla. V moških rastlinah je količina produkta hitreje naraščala in najvišje vrednosti so bile nekoliko višje kot pri ženskih rastlinah. Relativna količina izraženega domnevnega E gena (*SEP3* homolog) je postopoma naraščala v vseh fazah razvoja cvetnih brstov tako v moških kot ženskih rastlinah, vendar je bila višja v moških rastlinah. V listih (negativna kontrola) tako ženskih kot moških rastlin pa se domnevna C in E gena nista izražala.

MOLEKULSKI MARKERJI POVEZANI S SPOLOM PRI HMELJU:

V sodelovanju z mednarodnim konzorcijem smo pridobili podatke o več markerjih, pridobljenih z DArT tehniko na hmelju (Howard in sod. 2011 so identificirali 730 polimorfni markerjev v 92 akcesijah hmelja) in njihovem dedovanju v treh različnih družinah križanj hmeljnih rastlin. Opazili smo, da je prišlo do hibridizacije nekaterih markerjev le v moških, drugih pa le v ženskih rastlinah. Identificirali smo osem potencialnih markerjev za moški spol – t.j. tistih markerjev, kjer je prišlo do hibridizacije le v očetovski rastlini in njenih moških potomcih. Tri od osmih DArT markerjev smo združili v en kontig, tako da smo v nadaljni analizi ocenjevali šest DArT markerjev kot potencialne markerje za moški spol. Na podlagi znanih sekvenc teh DArT markerjev so bili narejeni specifični začetni oligonukleotidi. S PCR reakcijo smo v začetni fazi pomnoževali fragmente v DNA, izolirani iz štirih ženskih kultivarjev in štirih moških linij hmelja. Pogoje PCR reakcije smo lahko optimizirali za štiri (»M1«, »M2«, »M4« in »M28«) od šestih potencialnih moških markerjev. S PCR reakcijo smo pomnoževali moško specifične fragmente v skupaj 123 ženskih in 44 moških rastlinah, tako kultiviranih kot divjih, iz najrazličnejših geografskih lokacij, ki so nam bile na voljo deloma v sklopu naše raziskovalne skupine, deloma pa na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo v Žalcu. Noben od štirih potencialnih moških DArT markerjev se ni pomnoževal v nobeni ženski rastlini. Opazili pa smo nepomnožitev fragmentov s posameznimi moškimi markerji v manjšem številu moških rastlin neevropskega (japonskega ali ameriškega) ali hibridnega porekla, vendar smo lahko vse moške rastline identificirali s kombinacijo štirih moških DArT markerjev. Poleg tega smo testirali še 37 endomnih rastlin, kjer smo opazili pomnoževanje vsaj enega od štirih moških DArT markerjev v pretežno moških rastlinah z nekaj ženskimi cvetovi (Mf fenotip). Naredili smo tudi začetne oligonukleotide za multiplex PCR reakcijo, ki so pomnoževali fragmente različnih dolžin, kar bi omogočilo hitrejšo in učinkovitejšo identifikacijo moških rastlin s štirimi različnimi moškimi markerji v eni reakciji. Vendar nam je uspelo optimizirati pogoje le za triplex PCR reakcijo (trije moški markerji v eni PCR reakciji). Posekvenirali smo z vsemi štirimi moškimi DArT markerji pomnožene DNA fragmente iz večih moških rastlin in potrdili njihovo identičnost z originalnimi DArT sekvencami. Pri nekaterih akcesijah hmelja smo opazili dolžinski polimorfizem pomnoženih fragmentov z uporabo specifičnega moškega DArT markerja (»M28«). S sekveniranjem teh fragmentov smo odkrili delecijo v skupni dolžini 52 bp pa tudi nekaj enojnih nukleotidnih polimorfizmov (SNP) pretežno v akcesijah ameriškega ali hibridnega porekla. Nekaj teh moških markerjev je z orodjem BLAST dalo signifikantne zadetke z znanimi proteini v drugih rastlinskih vrstah. Npr. moški DArT marker (»M1«), ki je pokazal veliko podobnost z galaktoziltransferazno družino proteinov v repnjakovcu, soji in vinski trti pa tudi z glikoziltransferaznim proteinom, za katerega so nedavno ugotovili, da leži v regiji, odgovorni za razvoj spola pri vinski trti (Fechter in sod. 2012). Isti marker je pokazal podobnost z znanimi EST (delna nukleotidna zaporedja transkriptov genov) hmelja, konoplje, papaje in vinske trte (vse so dvodomne rastline), pridobljenimi iz cvetnih tkiv, kar kaže na to, da se marker verjetno nahaja v kodogeni regiji. Sekvence štirih moških DArT markerjev smo z orodjem BLAT dodatno primerjali s sekvencami dvodomne konoplje, ki je hmelju najsorodnejša rastlina z že posekveniranim genomom (van Bakel in sod. 2011; dostopno na <http://genome.cabr.utoronto.ca/>). Z orodjem BLAT so se sekvence dveh od štirih moških DArT markerjev (»M1« in »M4«) poravnale s kodogenimi regijami sekvenc konoplje (visoka identičnost in podobna distribucija domnevnih intronov in eksonov). V naši raziskavi preverjeni štirje moški DArT markerji bodo direktno uporabni za zgodnjo selekcijo spola pri hmeljnih sejančkih tako v zlahniteljske namene kot za selekcijo sadilnega materiala.

5. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih

raziskovalnih ciljev⁴

Rezultati raziskave v povezavi s ploidnostjo in izražanjem spola pri enodomnem hmelju so bili objavljeni v članku z naslovom »Ploidy and sex expression in monoecious hop (*Humulus lupulus*)« v reviji Botany, izsledki raziskave pa tudi predstavljeni na dveh mednarodnih kongresih (»19th EUCARPIA General Congress, 21-24 May 2012, Budapest, Hungary« in »International Hop Growers' Convention, Lublin, Poland, 19-23 June 2011«).

Pri delu raziskave v zvezi s skupino A, B, C, E genov iz MADS-box genske družine smo identificirali različno izražanje domnevnega C gena (*AG* homolog) in domnevnega E gena (*SEP3* homolog) v cvetnih brstih ženskih in moških rastlin hmelja v različnih fazah razvoja. Kljub večkratnim ponovitvam nam ni uspelo pridobiti kandidatne gene za B skupino genov, saj so bile pridobljene sekvence za domnevni *AP3* gen kratke in manj kvalitetne in nam ni uspelo optimizirati PCR reakcije v realnem času ali pa smo produkt zaznali tudi v negativni kontroli t.j. v listih. Prav tako smo pri domnemem *PI* genu produkt zaznali tudi v listih, kjer se A, B, C, E geni, ki kontrolirajo razvoj cvetnih organov, ne izražajo, tako da je najverjetneje šlo za nek drug gen z MADS-box sekvenco. MADS-box sekvenca je namreč v rastlinah prisotna v različnih genih in zelo ohranjena.

Identificirali smo šest potencialnih markerjev za moški spol pri hmelju. Optimizirali smo PCR reakcijo za štiri moške markerje in jih preizkusili na večjem številu (skupaj 204 ženske, moške in enodomne rastline) tako kultiviranih kot divjih hmeljnih rastlin iz različnih geografskih lokacij. V nobenem primeru nismo opazili pomnoževanja fragmentov v ženskih rastlinah. Ti markerji bodo direktno uporabni za zgodnje razlikovanje spola pri hmeljnih sejančkih, preden ti stopijo v reproduktivno fazo tako v žlahtniteljskih programih kot za selekcijo sadilnega materiala. Za razliko od SSR, ISSR, AFLP in RAPD markerjev, ki pretežno izvirajo iz repetitivnih nekodirajočih delov genoma so DArT markerji zaradi hibridizacijske platforme predvsem iz delov genoma, ki vsebuje gene in kot taki zelo zanimivi tudi za iskanje kandidatnih genov za gene, ki določajo spol. Izsledki tega dela raziskave so bili delno predstavljeni na mednarodnem kongresu (»III International Humulus Symposium, 9th - 14th 2012, Zatec, Czech Republic«), v pripravi pa je tudi članek z naslovom »Development of four new male markers from DArT sequences and analysis of sex-linked markers in monoecious hops« za objavo v eni izmed SCI revij za področje rastlinske biotehnologije.

6.Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁵

Poročilo vsebuje rezultate raziskovalnega projekta za obdobje od maja 2009 do novembra 2009 in za obdobje od marca 2011 do avgusta 2012. V vmesnem obdobju (15 mesecev) je bil podoktorski projekt prekinjen zaradi porodniškega dopusta edine raziskovalke na projektu. Poleg tega je bil tudi časovni raspored raziskovalnega dela spremenjen zaradi zgoraj navedenega razloga in tudi daljše bolniške odsotnosti edine raziskovalke znotraj obdobja vključenega v poročanje (skupaj 3 mesece odsotnosti za polni delovni čas in 2 meseca za polovični delovni čas zaradi zdravstvenih razlogov).

7.Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	7165817	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Ploidnost in izražanje spola v enodomnem hmelju (<i>Humulus lupulus</i>)
		ANG	Ploidy and sex expression in monoecious hop (<i>Humulus lupulus</i>)
Opis	Pri sicer dvodomnem hmelju se občasno spontano pojavijo enodomne rastline, pri katerih so na isti rastlini prisotna ženska in moška socvetja. Izmerili smo ploidnost 58 enodomnih rastlin hmelja, potomcev različnih križanj diploidnih staršev. S pretočno citometrijo smo ugotovili visok delež triploidnih rastlin med njimi (41,4%). Analiza dedovanja alelov z mikrosatelitnimi markerji je pokazala pretežno očetovski izvor (84,2%) nereduciranih gamet kot vzroka pojava triploidnosti pri enodomnih potomcih. Vsi triploidi so bili pretežno moške rastline z nekaj ženskimi		

	SLO	cvetovi in ta fenotip je bil prisoten samo med triplodi, kar kaže na najverjetnejšo povezanost tega fenotipa s triploidnostjo. Vse preostale enodomne rastline so bile diploidne, z izjemo rastline z najvišjo vsebnostjo jedrne DNA, ki je s citološko analizo števila kromosomov pokazala aneuploidno število kromosomov (21). Moške rastline so imele najnižjo vsebnost jedrne DNA, izmerjeno tako z AT specifičnim DAPI kot interkalarnim barvilom propidijevim jodidom. Ugotovili smo tudi, da ima hmelj relativno visok delež AT baz v genomu, in sicer je bil ta malo višji v moških kot v ženskih rastlinah (63.0% vs. 62.5%).
	ANG	Hop is a dioecious perennial plant, cultivated for its female inflorescences. Spontaneously arising monoecious hop plants, carrying male and female flower types on a specific plant, occasionally occur in the progeny of certain hop crosses. We assessed the ploidy of 58 monoecious plants, progenies of various crosses of diploid parents, to provide additional data on hop monoeciousness. Flow cytometric analysis revealed that a high percentage (41.4%) were triploid. An inheritance analysis of parental alleles using six codominant SSR markers demonstrated a primarily paternal origin (84.2%) of unreduced gametes as the cause of triploidy in monoecious plants. The predominantly male phenotype with a few female cones appears to be linked to triploidy in monoecious hops, since this phenotype was found only among triploid intersexes, and vice versa. All other monoecious plants were diploid, except for one genotype with the highest nuclear DNA content, which showed an aneuploidic number of chromosomes (21). Male hops showed the lowest nuclear DNA amount, as measured by DAPI and propidium iodide fluorochromes. The estimated AT frequency placed hop among species with a high AT content, which was slightly higher in male than in female plants (63.0% vs. 62.5%).
Objavljeno v		National Research Council of Canada; Botany; 2012; Vol. 90, No. 7; Str. 617-626; Impact Factor: 1.251; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.964; WoS: DE; Avtorji / Authors: Škof Suzana, Čerenak Andreja, Jakše Jernej, Bohanec Borut, Javornik Branka
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

8. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁷

	Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	7296121 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Novi markerji za moški spol iz DArT sekvenc ANG Novel hop male markers from DArT sequences
	Opis	SLO Določanje spola pri hmelju je omejeno na fenotipsko ocenjevanje v drugem letu rasti hmeljnih rastlin. Tako v žlahtniteljskih programih kot pri kultivaciji hmelja pa je zaželjeno zgodnejše določanje spola, ki je omogočeno z uporabo molekularnih markerjev. Nedavno so s pomočjo DArT (»diversity arrays technology«) tehnike odkrili 730 polimorfni markerjev v 92 akcesijah hmelja (Howard in sod. 2011). Pri šestih od teh DArT markerjev je prišlo do hibridizacije le v moških rastlinah in smo jih ocenili kot potencialne markerje za moški spol. Pogoje PCR reakcije smo lahko optimizirali za štiri od teh markerjev. S PCR reakcijo smo pomnoževali fragmente v 123 ženskih in 44 moških rastlinah iz različnih geografskih lokacij. Noben od teh štirih moških DArT markerjev se ni pomnoževal v ženskih rastlinah. Posamezni moški markerji se v manjšem številu moških rastlin neevropskega ali hibridnega porekla niso pomnoževali, vendar smo lahko vse moške rastline identificirali s kombinacijo štirih moških DArT markerjev. Naredili smo tudi začetne oligonukleotide, ki so pomnoževali fragmente različnih dolžin in optimizirali pogoje za triplex PCR reakcijo. Pri

		nekaterih akcesijah hmelja smo opazili dolžinski polimorfizem pomnoženih fragmentov z uporabo specifičnega moškega DArT markerja. S sekveniranjem teh fragmentov smo odkrili delecijo v skupni dolžini 52 bp pretežno v akcesijah ameriškega ali hibridnega porekla. Štirje novi moški DArT markerji se bodo lahko direktno uporabljali v žlahtniteljskih programih hmelja.
	ANG	Sex determination in hop is currently limited to phenotypic evaluation in the second year of growth. Earlier sex determination at the seedling stage is desirable for breeding and cultivation of hop: one approach is the use of molecular markers. Recently, 730 polymorphic markers from 92 hop accessions were discovered using diversity arrays technology (DArT; Howard et al. 2011), which were further used in linkage studies. Six of these DArT markers showed linkage with the male phenotype and were evaluated as potential male markers. PCR amplification conditions could be optimised for four of these six markers. PCR was carried out on 123 female and 44 male hop plants, both cultivated and wild, from a broad range of geographic locations. None of the four DArT male markers amplified in any female plant. Non-amplification in a few male plants of Japanese, North American or hybrid origin was observed when using single markers, but all males were identified by summing the results of all four markers. Also primers for amplifications of fragments of different lengths were designed and a triplex PCR assay was established. Interestingly, a length polymorphism in amplified fragments was identified when using one particular DArT male marker among some hop accessions. Sequencing identified a deletion of 52 bp mainly in hop accessions of American or mixed origin. The four new DArT male specific markers could be directly used in hop breeding programmes.
	Šifra	B.06 Drugo
	Objavljeno v	ISHS; III international Humulus symposium, 9th - 14th 2012, Zatec, Czech Republic; 2012; Str. 34; Avtorji / Authors: Škof Suzana, Jakše Jernej, Čerenak Andreja, Howard E. L., Whittock S., Koutoulis A., Javornik Branka
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
2.	COBISS ID	7265913 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Študije obojespolnih rastlin pri hmelju (<i>Humulus lupulus</i> L.)
		ANG Studies of intersexes in hop (<i>Humulus lupulus</i> L.)
	Opis	SLO Analiza 58 obojespolnih rastlin hmelja, ki so izvirale iz različnih križanj diploidnih staršev, je razkrila visok delež triploidnih endomnih rastlin. Poliploidi pri rastlinah se v naravi največkrat pojavijo kot posledica nastanka nereduciranih gamet. Merili smo ploidnost pelodnih zrn petih moških linij hmelja s pomočjo pretočne citometrije, pri čemer smo razvili nov protokol z mehansko poškodbo stene pelodnih zrn v zmrznjenem pufru. Pri nobeni analizirani moški liniji nismo odkrili nereduciranih gamet. Zato smo opravili analizo dedovanja alelov s šestimi kodominantnimi mikrosatelitnimi markerji, ki je pokazala, da so pretežno očetovske nereducirane gamete vpletene v razvoj triploidnih endomnih rastlin. Pri diploidnih endomnih rastlinah nismo odkrili povezave med vsebnostjo jedrne DNA in tipom izražanja spola z izjemo dejstva, da so imele moške rastline najnižjo vsebnost jedrne DNA. Moška rastlina, ki je bila prejšnjo rastno sezono enodomna, pa je imela višjo vsebnost jedrne DNA kot moške linije.
		Flow cytometric analysis of 58 monoecious hops, progenies of various crosses of diploid parents, revealed that a high percentage of intersexes were of triploid genotype. In the natural system, polyploids in plants most commonly arise through the involvement of unreduced gametes. The ploidy level of pollen nuclei of five pollinating lines was studied by flow cytometry, using a newly established procedure based on disruption of pollen grains by

	ANG	chopping in frozen buffer in order to determine whether the causal factor for triploid formation is unreduced pollen grains. Pollen ploidy screening revealed no evidence of unreduced male gametes in any of the males analysed. Inheritance analysis of parental alleles using six codominant SSR markers was therefore employed and it was demonstrated that paternal unreduced gametes were mainly involved in the occurrence of triploidy. No clear correlations between nuclear DNA content and type of sex expression in diploid hops were found, with the exception that male hops showed the lowest nuclear DNA amount, although a male reverting from a monoecious plant had a higher value.
Šifra	B.03	Referat na mednarodni znanstveni konferenci
Objavljeno v	Genetic Society of Slovenia; Genetika 2012; 2012; Str. 55; Avtorji / Authors: Škof Suzana, Čerenak Andreja, Jakše Jernej, Bohanec Borut, Javornik Branka	
Tipologija	1.12	Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

Pri raziskavi izvora nereduciranih gamet kot vzroka pojava triploidnosti pri enodomnih potomcih diploidnih staršev smo razvili enostaven, hiter in učinkovit protokol merjenja ploidnosti peloda (vsebnosti DNA v jedrih peloda) s pretočno citometrijo, na osnovi mehanske poškodbe stene pelodnih zrn z rezanjem z britvico v zmrznjenem pufu. Uporabnost smo dokazali pri pelodu hmelja in še osmih različnih rastlinskih vrstah. Nereducirane gamete so najpogostejši vzrok pojava poliploidizacije kot vira genetske variabilnosti pri rastlinah in učinkovita in enostavna metoda določanja ploidnosti peloda je zelo pomembna za žlahtnitelje tako okrasnih rastlin kot tudi poljščin in drugih rastlin za vnos novih lastnosti in/ali produkcijo novih sort. Novo vzpostavljena metoda ima prednost pred dosedaj obstoječimi metodami (vzpostavljeni protokoli temeljijo na kalečem pelodu ali pelodu tretiranem z ultrazvokom), ker je veliko hitrejša in enostavnejša, še zlasti pri tistih rastlinskih vrstah, kjer pelod slabo oz. sploh ne kali.

10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

10.1. Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Študija določanja spola pri hmelju bi lahko predstavljala prednost pri študijah mehanizmov določanja spola pri rastlinah, ker geni, ki določajo spol pri hmelju, začnejo delovati verjetno že veliko pred organogenezo cvetov. Pri večini enodomnih ali dvodomnih rastlin (npr. koruza, kumare, asparagus, kivi, Silene, Rumex) se namreč na začetku formirajo tako moški kot ženski spolni organi, razvoj moških ali ženskih organov pa je zavrt ali prekinjen šele v kasnejši stopnji razvoja. Dvodomne rastline bi lahko na relativno preprost način kontrolirale razvoj ženskih in moških spolnih organov v ženskih in moških cvetovih z diferencialno regulacijo izražanja A, B, C, E sistema genov iz MADS-box genske družine, ki kontrolirajo razvoj cveta, še posebej B in C genov, ki regulirajo oblikovanje prašnikov in pestiča (Theissen 2001). Za B in C gene je bilo dokazano diferencialno izražanje v več rastlinskih vrstah s spolnim polimorfizmom, vendar ni znano, ali imajo B in C geni vzročno vlogo pri določanju spola. B in C geni bi se lahko izražali spolno specifično v razvijajočih cvetovih hmelja, saj se v moških ali ženskih cvetovih hmelja nikoli ne začnejo oblikovati organi drugega spola (Shephard in sod. 2000). Identifikacija in študija izražanja domnevnih A, B, C in E genov v hmelju bo omogočila nova spoznanja o njihovi možni vpletenosti v določanje spola pri hmelju kot tudi pri drugih dvodomnih rastlinah. V naši raziskavi smo s PCR reakcijo v realnem času identificirali različno izražanje domnevnega C gena (Agamous homolog) in domnevnega E gena (Sepallata3 homolog) v ženskih in moških rastlinah hmelja v različnih fazah oblikovanja cvetnih popkov. Identificirali smo štiri nove diagnostične DArT markerje za moški spol pri hmelju. Ti markerji bodo direktno uporabni za zgodnje razlikovanje spola pri hmeljnih sejančkih, preden ti stopijo v reproduktivno fazo tako v žlahtniteljskih programih kot za selekcijo sadilnega materiala. Za razliko od SSR, ISSR, AFLP in

RAPD markerjev, ki pretežno izvirajo iz repetitivnih nekodirajočih delov genoma, so DArT markerji zaradi hibridizacijske platforme predvsem iz delov genoma, ki vsebuje gene in kot taki zelo zanimivi tudi za iskanje kandidatnih genov za gene, ki določajo spol. Pri dvodomnih rastlinah (npr. *Silene*, papaja) je znanih že več genov, povezanih s spolnimi kromosomi, nedavno pa so pri vinski trti identificirali več kandidatnih genov, ki bi lahko vplivali na spol vinske trte. Eden izmed v naši študiji identificiranih DArT markerjev je pokazal veliko podobnost z glikoziltransferaznim proteinom, za katerega so nedavno ugotovili, da leži v regiji, odgovorni za razvoj spola pri vinski trti (Fechter in sod. 2012).

ANG

Hop appears to be well suited to sex determination studies, since it has the benefit of initiating only one set of sex organs, which suggests that genes, which could control the gender differences probably act well in advance of flowering organogenesis. This is in contrast to most of the monoecious and dioecious plant species being used to investigate the molecular basis of sex determination (e.g. cucumber, white campion, asparagus, kiwi), which initiate both male and female sex organs prior to the suppression or abortion of the inappropriate set at a later stage of development. A relatively simple way for dioecious plant species to regulate the development of male and female sex organs would be through differential regulation of the expression of the ABCE floral organ-identity genes, specifically the B and C genes, that are implicated in specifying the identity of the stamen and carpel whorls (Theissen 2001). Differential expression of B and C genes has been demonstrated in a number of plant species showing gender polymorphism (e.g. *S. latifolia*, *R. acetosa*), although it is not yet known whether this imply a causal role for B and C genes in gender expression. B and C genes could be expressed in sex specific manner in developing hop flowers, since the inappropriate set of sex organs is never initiated in flowers of either sex (Shephard et al. 2000). Identification and study of expression patterns of the putative ABCE floral organ-identity genes in developing hop floral buds could provide new insights in their possible involvement in sex determination in hop and in other dioecous plants. In our study real-time PCR revealed different expression patterns of putative C gene (Agamous homolog) and putative E gene (Sepallata3 homolog) in female and male flower buds in different developmental stages. Four new DArT markers linked to male sex in hop were identified. These four markers could be directly used in hop breeding programmes for early discrimination of hop seedlings before entering the adult stage to aid breeding programs and for quick selection of planting material. DArT markers due to hybridization platform originate predominantly from genomic regions with genes and are consequently more interesting for discovering sex determination genes in contrast to SSR, ISSR, AFLP and RAPD markers, which originate predominantly from repetitive non-codogenic regions of the genome. Several X- or Y-linked genes are already known and described in different dioecious species (e.g. *Silene*, papaya), and recently several candidate genes that may have an influence on sex determination in grapevine were found. One DArT marker showed significant similarity with glycosyltransferase-like protein, which has been recently discovered to be located in the region of the flower sex locus in grapevine (Fechter et al. 2012).

10.2. Pomen za razvoj Slovenije [11](#)

SLO

Določanje spola pri hmeljnih rastlinah je omejeno na fenotipsko določanje spola v drugem letu rasti sejancov. Tako v žlahtniteljskih programih kot v gojenju hmelja je zaželjena zgodnja determinacija spola, saj so v proizvodnji hmelja uporabni le storžki ženskih rastlin. Moške rastline se uporabljajo samo v žlahtniteljske namene, v hmeljiščih pa so nezaželjene, ker oplojeni hmeljni storžki znižujejo kakovost pridelka. Molekulski markerji omogočajo zgodnjo identifikacijo spola rastlin. Pri dosedaj znanih dveh molekulskih markerjih povezanih z moškim spolom pri hmelju poročajo o nepopolni povezavi z moškim spolom ali nepomnožitvi v določenih moških rastlinah. Pridobitev štirih novih zanesljivih s spolom povezanih diagnostičnih markerjev pomeni pomembno pridobitev tudi z ekonomskega stališča, saj bo bistveno skrajšalo postopek žlahtnjenja pri hmelju. Prav tako bo skrajšala in pocenila selekcijo sadilnega materiala ter jo naredila učinkovitejšo glede zanesljivega, hitrega izbora gospodarsko pomembnih s spolom vezanih rastlin. Rezultati raziskave bodo uporabni ne samo v domačem gospodarstvu, ampak tudi širše v evropskem in svetovnem prostoru, povsod tam, kjer se prideluje hmelj. V teku je preizkus v naši raziskavi razvitih štirih DArT markerjev za moški spol na 500 sejancih hmelja v

Žlahtniteljskem programu na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo v Žalcu. Na vodilnem slovenskem hmeljarskem inštitutu letno posadijo 3000 do 4000 sejancov, zato je zgodnje določanje spola sejancov izjemnega pomena tako v ekonomskem kot časovnem smislu.

ANG

Sex determination in hop is currently limited to phenotypic evaluation in the second year of growth. Only female inflorescences (hop cones) have commercial value. Male plants are only used for breeding purposes and are not wanted in hop gardens due to decreased quality of fertilized hop cones and high probability of unintentional crosses. Earlier sex determination at the seedling stage is desirable for breeding and cultivation of hop: one approach is the use of molecular markers. Since data suggest incomplete linkage to the male character or non-amplification in certain male genotypes in two male markers known, more new markers linked to sex would be helpful in programmes of marker assisted selection. Identification of four new reliable sex linked diagnostic markers is also an economically important acquisition, since it will essentially shorten long-lasting breeding procedures in hop. As well it will reduce costs and enable rapid and more efficient selection of planting material in agronomically important dioecious plants, where plants of one gender have superior agronomic traits to those of the other. The results will be useful not only in Slovenian economy but also in other countries, where hops are grown. Currently, four new DArT male markers are tested for male plants identification in the population of 500 hop seedlings in the breeding programme of the Slovenian Institute of Hop Research and Brewing in Žalec.

11. 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		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

		<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15 Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16 Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17 Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18 Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19 Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20 Ustanovitev novega podjetja ("spin off")		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21 Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22 Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

12.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
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="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
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"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
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"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
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"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj					
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
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"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					
G.09.	Drugo:					

Komentar

--

13. Pomen raziskovanja za sofinancerje¹²

	Sofinancer		
1.	Naziv		
	Naslov		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja		EUR

		projekta je znašala:		
		Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja			Šifra	
	1.			
	2.			
	3.			
	4.			
	5.			
Komentar				
Ocena				

14. Izjemni dosežek v letu 2012¹³

14.1. Izjemni znanstveni dosežek

Naveden v priponki.

14.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

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

Suzana Škof

ŽIG

Kraj in datum:

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/273

¹ Opredelite raziskovalno področje po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevajalna tabela med raziskovalnimi področji po klasifikaciji ARRS ter po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science) s kategorijami WOS (Web of Science) kot podpodročji je dostopna na spletni strani agencije (<http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/preslik-vpp-fos-wos.asp>). [Nazaj](#)

² Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

³ 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](#)

⁴ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

⁵ 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](#)

⁶ 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](#)

⁷ 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](#)

⁸ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 7 in 8 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁹ 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](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹² 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](#)

¹³ Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2012 (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 priložitev/-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](#)

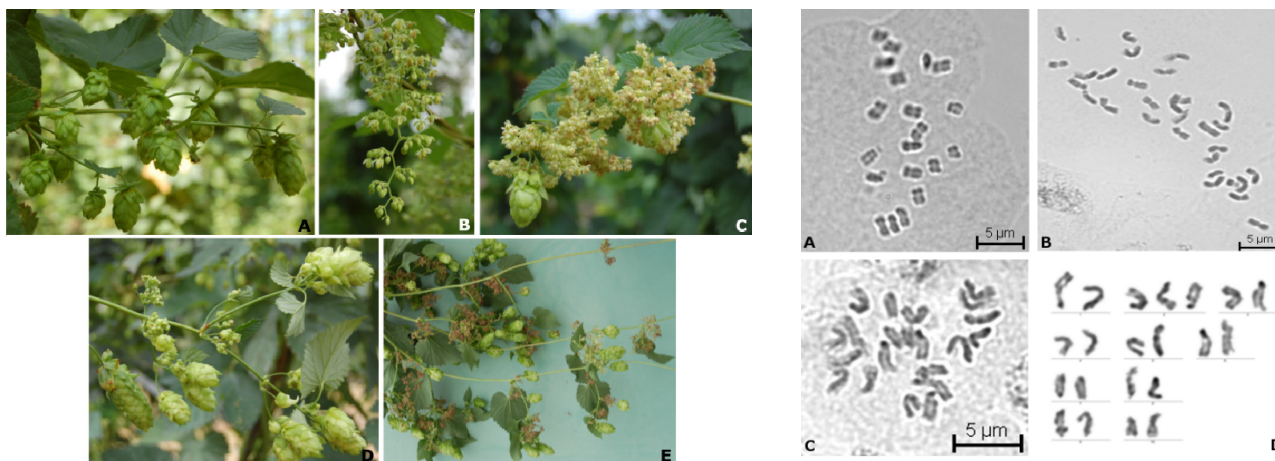
Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2013 v1.00
FB-93-8F-86-7D-DC-C9-F5-31-81-7E-A3-09-48-9D-81-93-CB-B0-76

BIOTEHNIKA

Področje: 4.03 – Rastlinska produkcija in predelava

Dosežek 1: Ploidnost in izražanje spola v enodomnem hmelju,

Vir: ŠKOF, Suzana, ČERENAK, Andreja, JAKŠE, Jernej, BOHANEK, Borut, JAVORNIK, Branka. Ploidy and sex expression in monoecious hop (*Humulus lupulus*). *Botany*. [Tiskana izd.], 2012, vol. 90, no. 7, str. 617-626.



Različne stopnje izražanja moških in ženskih cvetov in di-, tri- in aneuploidno število kromosomov v enodomnem hmelju

Pri sicer dvodomnem hmelju se občasno spontano pojavijo enodomne rastline (ženski in moški cvetovi na isti rastlini). S pretočno citometrijo smo izmerili ploidnost 58 enodomnih rastlin hmelja, potomcev različnih križanj diploidnih staršev in ugotovili visok delež triploidnih rastlin (41,4%). Analiza dedovanja alelov z mikrosatelitnimi markerji je pokazala pretežno očetovski izvor (84,2%) nereduciranih gamet kot vzroka pojava triploidnosti. Vsi triploidi so bili pretežno moške rastline z nekaj ženskimi cvetovi in ta fenotip je bil prisoten samo med triploidi, kar kaže na najverjetnejšo povezanost tega fenotipa s triploidnostjo. Vse preostale enodomne rastline so bile diploidne, z izjemo rastline, ki je imela najvišjo izmerjeno vsebnost jedrne DNA in aneuploidno število kromosomov (21). Moške rastline so imele najnižjo vsebnost jedrne DNA. Ugotovili smo tudi, da ima hmelj relativno visok delež AT baz v genomu, in sicer je bil ta malo višji v moških rastlinah (63.0% vs. 62.5%).