



SimBiozij

**Študentski znanstveni simpozij Biotehniške fakultete
Univerze v Ljubljani 2026**

Zbornik izvlečkov



Ljubljana, 15. 9. 2026

Uredniški odbor

Luka Škabar
Tina Skočaj
Sara Skvarč
Nejc Pelko

Organizacijska ekipa

Alja Arih
Karisa Hribar
Vid Hudoklin
Matej Novak
Nejc Pelko
Ana Petek
Lovro Rožmanc
Tina Skočaj
Sara Skvarč
Luka Škabar
Urška Vajngerl
Tia Zanutto

Recenzenti

znan. svt. dr. Bojana
Bogovič Matijašić
asist. dr. Hannah Rose
Bonham
znan. sod. dr. Maša Čater
asist. dr. Špela Di Batista
Borko
asist. dr. Marko
Dobrilovič
asist. dr. Andraž Dolar
izr. prof. dr. Cene Fišer
prof. dr. Miha Humar
izr. prof. dr. Anita Jemec
Kokalj
doc. dr. Monika Jevšnik
Virant
doc. mag. Mateja Kregar
Tršar
prof. dr. Tatjana Pirman
prof. dr. Aleš Podgornik
prof. dr. Tomaž Polak
doc. dr. Katarina Rudolf
Pilih
prof. dr. Valentina
Schmitzer
izr. prof. dr. Aleš Straže
doc. dr. Tinkara Tinta
asist. dr. Marko Verce
prof. dr. Rajko Vidrih

Lektura: mag. Margit Berlič Ferlinc, s.p.

Založnik: Študentski svet Biotehniške fakultete in Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva ulica 101, 1000 Ljubljana

1. elektronska izdaja

Cena: brezplačno

Dostopno na: <https://www.bf.uni-lj.si/sl/studij/studentske-strani/studentski-svet/#SimBiozj>

To delo je ponujeno pod licenco [Creative Commons Priznanje avtorstva 4.0 Mednarodna licenca](#). /
This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](#).

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani

[COBISS.SI-ID 292061443](#)

ISBN 978-961-7278-04-0 (Biotehniška fakulteta, PDF)



Uvodna beseda

Študentski svet Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani je letos prvič organiziral študentski znanstveni simpozij SimBiozij. Z dogodkom smo želeli povezati študente različnih študijskih programov, jim omogočiti predstavitev svojega dela ter spodbuditi k izmenjavi znanja med raznovrstnimi področji, ki jih združuje fakulteta.

Na enem mestu so se tako srečale različne vede, raziskovalna vprašanja in pristopi. Udeleženci so svoje rezultate predstavili širšemu občinstvu, obenem pa spoznali teme in načine raziskovanja zunaj svojega področja.

Eden od namenov SimBiozija je bil študentom že v zgodnejših fazah študija približati znanstveno komuniciranje. Priprava prispevka, predstavitev rezultatov in strokovna razprava so namreč dragocen del raziskovalnega dela, zato smo želeli študentom omogočiti, da te izkušnje pridobijo že na prvi in drugi stopnji študija.

Želimo si, da bi SimBiozij tudi v prihodnje povezoval študente različnih programov Biotehniške fakultete ter spodbujal izmenjavo znanja, idej in izkušenj med njimi.

Avtorjem, mentorjem in recenzentom se iskreno zahvaljujemo za sodelovanje, še posebej pa se zahvaljujemo vsem, ki so sodelovali pri osnovanju in organizaciji dogodka ter pripravi zbornika. Brez vas SimBiozij ne bi bil SimBiozij, hvala!

uredniški odbor



Kazalo vsebine

Interakcije med <i>Escherichia coli</i> Nissle 1917 in <i>Roseburia intestinalis</i>: vpliv kokultivacije na rast in produkcijo izbranih metabolitov	4
Katja Marinko, Maša Zorec, Maša Vodovnik	
Vpliv oksidativnega stresa na antagonizem in sporulacijo bakterije <i>Bacillus subtilis</i> v kokulturi z bakterijo <i>Salmonella</i> Typhimurium	6
Tina Skočaj, Sara Skvarč, Eli Podnar, Tjaša Danevčič, Ines Mandić-Mulec	
Konstrukcija poročevalskih sevov za spremljanje aktivacije splošnega odziva na stres pri bakteriji <i>Bacillus subtilis</i> v interakciji z bakterijo <i>Salmonella</i> Typhimurium	8
Gaja Turnšek, Eli Podnar, Tjaša Danevčič, Ines Mandić-Mulec	
Plasmid engineering for efficient deletion of long DNA fragments in <i>Bacillus subtilis</i>	10
Neža Kovač, Luna Mavrič, Virginie Grosboillot, Anna Dragoš	
Characterization of functional SPβ-ϕ3T chimeric temperate phages in <i>Bacillus subtilis</i>	12
Neža Kovač, Luna Mavrič, Valentina A. Floccari, Virginie Grosboillot, Anna Dragoš	
Uporaba fluorescenčnega barvila FITC za spremljanje infektivnosti bakteriofagov	14
Cene Ulaga Sterle, Ana Lisac	
Mikrobiom invazivne vrste rebrače <i>Mnemiopsis leidyi</i>	16
Iza Veselko	
Dokaz nehumanih parehovirusov v malih glodavcih, ujetih v Sloveniji v letu 2025	18
Luka Škabar, Rok Kogoj, Miša Korva	
Zasnova in ureditev naravoslovne zbirke malih sesalcev Oddelka za biologijo (BF, UL)	20
Lenart Jonke Grabner, Franc Kljun, Žiga Fišer	
Vpliv kalcitriola na izražanje izbranih imunskih genov v epitelnih celicah mlečne žleze goveda po imunostimulaciji	22
Matic Hrabar, Ida Djurdjevič, Jernej Ogorevc	
Od obogatene okolja do anhedonije: vpliv izgube obogatitve na obnašanje laboratorijskih miši	24
Tjaša Ponikvar, Maša Čater	
Does exposure to sublethal doses of pesticide drive reproductive behaviour in the spider <i>Dolomedes fimbriatus</i>?	25
Nika Justin, Simona Kralj-Fišer, Franco Cargnelutti	
Vpogled v življenjske strategije slepih postranic (Amphipoda: <i>Niphargus</i>)	27
Aleksander Kogej, Ester Premate, Mirna Bilas, Gregor Bračko, Teo Delić, Žiga Fišer, Klara Gajšek, Anja Kos, Anja Pekolj, Behare Rexhepi, Maja Zagmajster, Cene Fišer	
Uporaba molekularnih označevalcev in postopkov ohranjanja živosti peloda pri žlahtnjenju hibridnih sort koruze (<i>Zea mays</i>)	29
Nejc Pelko, Jan Vaněk, Luka Šubic	
Vpliv blanširanja v kombinaciji z ultrazvokom in UV-C obsevanjem na kakovost odmrznjenega krompirja	31
Tinkara Golob	
Vsebnost kofeina in drugih metilksantinov v praženih kavah na slovenskem trgu	33
Gal Žgur, Agnes Kresevič, Mateja Lušnic Polak	



Vzorci privzema in kopičenja kovin v saprofitskih glivah Luka Charapikj	35
Lastnosti arheološkega lesa jelke s Čadrga Ažbe Leskovic, Jure Žigon, Maks Merela	37
From plastics pollution to microplastics: preparing a fieldwork activity for outdoor teaching of primary and secondary school students Ajda Ivezič, Nika Justin, Eva Šart, Anita Jemec Kokalj, Iztok Tomažič	39
Kombinacija metod za celostno sanacijo kamnoloma pod Konjiško goro pri Slovenskih Konjicah Julija Petrič	41
Reintegrating the Costa-Couros river into the urban fabric of Guimarães - LE:NOTRE 2026 "SEGUNDA VIDA" Zhang Bochen, Mirta Dolinšek, Vasilija Petrović, Marko Verbič, Nan Wu	43
Oblikovanje polja za raztros na pokopališču Bitnje Rina Hojnik, Polona Lovšin, Lea Morano, Kaja Pelko Pleteršek	45



Interakcije med *Escherichia coli* Nissle 1917 in *Roseburia intestinalis*: vpliv kokultivacije na rast in produkcijo izbranih metabolitov

Katja Marinko¹, Maša Zorec¹, Maša Vodovnik¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za mikrobiologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana

Dandanes je vse večji poudarek na ohranjanju zdrave in raznolike črevesne mikrobiote, saj ima le-ta številne pozitivne vplive na gostiteljevo zdravje, njena disbioza pa je povezana z nastankom različnih bolezni, kot je na primer kronična vnetna črevesna bolezen (KVČB) (Hou in sod., 2022). Poseljenost sluznice črevesja s komenzalnimi bakterijami skrbi za ohranjanje zdrave črevesne pregrade ter omejuje naseljevanje patogenih bakterij; produkcija butirata kot ene izmed kratkoverižnih maščobnih kislin (KMK) pa prispeva k ohranjanju tesnih stikov med celicami sluznice in moduliranju imunskega odziva (Fusco in sod., 2023).

Obetavno možnost predstavlja tudi razvoj novih terapij s komenzalnimi bakterijami z dokazano ugodnimi učinki na zdravje, t. i. probiotiki nove generacije (NGP). Mednje spada tudi *Roseburia intestinalis* (*R. intestinalis*), ki je pomembna proizvajalka kratkoverižnih maščobnih kislin, zlasti butirata, ki ima številne ugodne vplive na zdravje človeka (Kumari in sod., 2021).

Naš cilj je bilo proučiti vpliv probiotičnega bakterijskega seva *Escherichia coli* Nissle 1917 (*E. coli*) na rast in produkcijo izbranih metabolitov (zlasti butirata) *R. intestinalis* L1-952 (*R. intestinalis*). Poleg kokulture z živo *E. coli* smo vključili tudi kulture z inaktiviranimi celicami, da bi ocenili, kolikšen del učinka je mogoče pripisati njihovim celičnim komponentam. Pripravili smo gojišči M2 in YCFA-GSC za namnoževanje celic v Hungate epruvetah ter uporabili plinski dovodni sistem za CO₂ za zamenjavo atmosfere in s tem ustvarili anaerobne pogoje. Bakterije smo sterilno inokulirali pod anaerobnimi pogoji in jih gojili pri 37 °C, njihovo rast pa smo spremljali z laboratorijskim spektrofotometrom pri OD_{650 nm}. Po končanem eksperimentu smo izvedli ekstrakcijo KMK ter derivatizacijo laktata in sukcinata, vzorce pa analizirali s plinsko kromatografijo.

Rezultati obeh poskusov niso pokazali povečane produkcije butirata v prisotnosti žive *E. coli*. V prvem poskusu je bila produkcija butirata v kokulturi z živo *E. coli* nižja kot v monokulturi *R. intestinalis*, medtem ko so bile ob dodatku inaktivirane *E. coli* vrednosti primerljive z monokulturo in višje kot v živi kokulturi. V drugem poskusu, izvedenem v gojišču YCFA-GSC, je bila produkcija butirata najvišja v monokulturi *R. intestinalis* in nekoliko nižja v obeh kokulturah. V tem gojišču je *E. coli* proizvedla manj acetata in več laktata kot v prvem poskusu, kar kaže na pomemben vpliv sestave gojišča na njen metabolni profil.

Rezultati kažejo, da dodatek žive *E. coli* Nissle v preučevanih pogojih ni spodbudil produkcije butirata pri *R. intestinalis*, pri čemer lahko na interakcijo med sevoma pomembno vplivajo pogoji gojenja. Rezultati prvega poskusa dodatno nakazujejo, da bi lahko inaktivirane celice *E. coli* predstavljale dodaten vir hranil brez kompeticije metabolno aktivnega seva. V nadaljnjih raziskavah bi bilo zato smiselno optimizirati sestavo gojišča, čas inokulacije in trajanje kokultivacije ter podrobneje preučiti potencial navzkrižnega hranjenja med sevoma.



Ključne besede: *Roseburia intestinalis*, *Escherichia coli* Nissle 1917, kokulture, kratkoverižne maščobne kisline (KMK), probiotiki nove generacije (NGP).

Viri

- Fusco W., Lorenzo M. B., Cintoni M., Porcari S., Rinninella E., Kaitsas F., Lener E., Mele M. C., Gasbarrini A., Collado M. C., Cammarota G., Ianiro G. 2023. Short-chain fatty-acid-producing bacteria: key components of the human gut microbiota. *nutrients*, 15, 9: 2211, <https://doi.org/10.3390/nu15092211>
- Hou K., Wu Z.-X., Chen X.-Y., Wang J.-Q., Zhang D., Xiao C., Zhu D., Koya J. B., Wei L., Li J., Chen Z.-S. 2022. Microbiota in health and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7, 1: 135, <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4>
- Kumari M., Singh P., Nataraj B. H., Kokkiligadda A., Naithani H., Azmal Ali S., Behare Pradip. V., Nagpal R. 2021. Fostering next-generation probiotics in human gut by targeted dietary modulation: An emerging perspective. *Food Research International*, 150: 110716, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110716>



Vpliv oksidativnega stresa na antagonizem in sporulacijo bakterije *Bacillus subtilis* v kokulturi z bakterijo *Salmonella Typhimurium*

Tina Skočaj¹, Sara Skvarč¹, Eli Podnar¹, Tjaša Danevčič¹, Ines Mandić-Mulec¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za mikrobiologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana

V mikrobnih skupnostih medvrstne interakcije pomembno vplivajo na rast, preživetje in življenjski cikel bakterij (Lou in sod., 2025). Pri teh interakcijah ima lahko pomembno vlogo tudi oksidativni stres, ki ga povzročajo reaktivne kisikove spojine in lahko vpliva na fiziologijo ter stresne odzive bakterij (Imlay, 2019).

Bakterija *Bacillus subtilis* se pred oksidativnim stresom ščiti z različnimi obrambnimi mehanizmi, katerih izražanje med drugim uravnava represor PerR (Kandari in Joshi, 2024). Aktivnost tega represorja je odvisna od vezanega kovinskega iona, pri čemer vezava mangana zmanjša občutljivost represorja na inaktivacijo z vodikovim peroksidom in s tem preprečuje derepresijo genov za odziv na oksidativni stres (Kandari in Joshi, 2024). Mangan pri zaščiti pred oksidativnim stresom sodeluje tudi na druge načine, saj deluje kot kofaktor različnih encimov ter lahko z nadomeščanjem železa na določenih vezavnih mestih omejuje Fentonovo reakcijo, pri kateri iz vodikovega peroksida v prisotnosti železa nastajajo zelo reaktivni hidroksilni radikali (Bosma in sod., 2021).

Predhodno je bilo ugotovljeno, da se v s hranili revnem gojišču ob neposrednem stiku bakterije *B. subtilis* z bakterijo *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) sporulacija bakterije *B. subtilis* izrazito zmanjša (Podnar in sod., 2025). Transkriptomska analiza je pri bakteriji *B. subtilis* v kokulturi med drugim pokazala povečano izražanje genov, povezanih z odzivom na oksidativni stres in privzemom mangana. Namen raziskovalnega projekta je bil zato preučiti vlogo oksidativnega stresa pri zmanjšani sporulaciji bakterije *B. subtilis* v kokulturi z bakterijo *S. Typhimurium*.

Bakteriji *B. subtilis* PS-216 in *S. Typhimurium* SL1344 smo gojili v monokulturah in kokulturi v 20-krat redčenem gojišču TSB. Vpliv mangana smo preučevali z dodatkom $MnCl_2$ v gojišče, vlogo regulatorja odziva na oksidativni stres PerR pa z uporabo mutante *B. subtilis* $\Delta perR$. Po 24-urni inkubaciji smo določili število kolonijskih enot bakterij, število spor in frekvenco sporulacije bakterije *B. subtilis* v monokulturi in kokulturi. Poskuse smo izvedli v treh bioloških ponovitvah. Statistično značilnost razlik med monokulturo in kokulturo smo preverjali s Studentovim t-testom.

V kokulturi z bakterijo *S. Typhimurium* je bila frekvenca sporulacije bakterije *B. subtilis* v primerjavi z monokulturo nižja. Ob dodatku $MnCl_2$ je bila frekvenca sporulacije v kokulturi izrazito višja in je celo presegla frekvenco sporulacije v monokulturi. Pri tem število kolonijskih enot bakterije *S. Typhimurium* v kokulturi ni bilo statistično značilno manjše, zato povišane frekvence sporulacije ni mogoče pripisati zmanjšanju številčnosti bakterije *S. Typhimurium*. Rezultati tako nakazujejo, da mangan vpliva na proces, povezan z zaviranjem sporulacije bakterije *B. subtilis* v kokulturi. Pri mutanti *B. subtilis* $\Delta perR$ je bila frekvenca sporulacije nizka tako v monokulturi kot v kokulturi z bakterijo *S. Typhimurium*. Ker odsotnost regulatorja PerR povzroči derepresijo genov za odziv na oksidativni stres in s tem posnema oksidativni stresni odziv (Kandari in Joshi, 2024), ta rezultat dodatno nakazuje na povezanost oksidativnega stresnega odziva z zmanjšano sporulacijo.

Rezultati raziskave podpirajo povezavo med odzivom na oksidativni stres in uravnavanjem sporulacije bakterije *B. subtilis* med interakcijo z bakterijo *S. Typhimurium*. Pozitiven vpliv mangana na frekvenco sporulacije ter nizka frekvenca sporulacije mutante $\Delta perR$ predstavljata



pomembni izhodišči za razumevanje mehanizma te medvrstne interakcije, vendar bodo za njegovo natančno opredelitev potrebne nadaljnje raziskave.

Ključne besede: *Bacillus subtilis*, *Salmonella* Typhimurium, sporulacija, oksidativni stres, mangan, PerR.

Viri

- Bosma E. F., Rau M. H., van Gijtenbeek L. A., Siedler S. 2021. Regulation and distinct physiological roles of manganese in bacteria. FEMS Microbiology Reviews, 45, 6: fuab028, <https://doi.org/10.1093/femsre/fuab028>
- Imlay J. A. 2019. Where in the world do bacteria experience oxidative stress? Environmental Microbiology, 21, 2: 521–530, <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14445>
- Kandari D., Joshi H. 2024. PerR: a peroxide sensor eliciting metal ion-dependent regulation in various bacteria. Molecular Biotechnology, 67, 9: 3428–3439, <https://doi.org/10.1007/s12033-024-01266-8>
- Lou Y., Liu Z., Zhang Q., Zhang L., Liao X., Yang T., Liu D., Lu X., Ahn J., Ding T., Feng J. 2025. Interspecies and intraspecies ‘talk’ shape the bacterial biofilms. Food Quality and Safety, 9: fyaf008, <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyaf008>
- Podnar E., Dendinovic K., Danevčič T., Lories B., Kovačec E., Steenackers H., Mandić-Mulec I. 2025. *Bacillus subtilis* ensures high spore quality in competition with *Salmonella* Typhimurium via the SigB-dependent pathway. The ISME Journal, 19, 1: wraf052, <https://doi.org/10.1093/ismejo/wraf052>



Konstrukcija poročevalskih sevov za spremljanje aktivacije splošnega odziva na stres pri bakteriji *Bacillus subtilis* v interakciji z bakterijo *Salmonella Typhimurium*

Gaja Turnšek¹, Eli Podnar¹, Tjaša Danevčič¹, Ines Mandić-Mulec¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za mikrobiologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana

Salmonele so patogene bakterije, razširjene po vsem svetu. Eden ključnih serotipov je *Salmonella enterica* serotip Typhimurium, ki povzroča gastroenteritis (Perez-Sepulveda in Hinton, 2025). Pojav proti antibiotikom odpornih serotipov predstavlja resno grožnjo zdravstvu, saj omejuje možnosti zdravljenja okužb, ki jih povzročajo (Patra in sod., 2021). Zato je iskanje novih načinov za reševanje problema večkratno odpornih bakterij eden najbolj aktualnih izzivov. Obetavno rešitev bi lahko predstavljala uporaba probiotikov, ki lahko olajšajo zdravljenje okužb ter hkrati blagodejno delujejo na črevesno mikrobioto. Zanimanje je predvsem za uporabo bakterij rodu *Bacillus*, predvsem vrste *Bacillus subtilis*. Te so del mikrobiote ljudi in živali ter lahko izločajo protimikrobne spojine in tvorijo endospore. Endospore so se še posebej uspešno izkazale kot probiotiki, saj jim njihova trdoživost omogoča dolgotrajno preživetje v organizmu in daljši rok trajanja, kar je koristno tudi za industrijo (Elshaghabee in sod., 2017; Lee in sod., 2019; Podnar in sod., 2025). Zaradi tega so pomembne raziskave interakcij med bakterijama *S. Typhimurium* in *B. subtilis*, saj je pred potencialno rabo potrebno dobro razumevanje njihovih mehanizmov. Dosedanje raziskave so pokazale, da je sporulacija bakterije *B. subtilis* v kokulturi inhibirana ob pomanjkanju hranil, vendar natančnega mehanizma še ne poznamo (Podnar in sod., 2025).

V raziskovalnem projektu smo se osredotočali na splošni odziv na stres pri bakteriji *B. subtilis*, ki je odvisen od faktorja sigma B (SigB) in je odgovoren za inhibicijo sporulacije v kokulturi z bakterijo *S. Typhimurium*. V ta namen smo pripravili poročevalsko fuzijo promotorske regije P_{ctc} zvezano z genom za rumeni fluorescenčni protein. Gen *ctc* je eden najbolj induciranih genov pri splošnem odzivu na stres in del regulona SigB. Aktivnost promotorja smo spremljali z uporabo fluorescenčnega spektrometra v s hranili revnem gojišču (dvajsetkrat redčeno tekoče gojišče TSB). Kot pričakovano, je bila aktivacija splošnega odziva na stres višja v kokulturi bakterij *B. subtilis* in *S. Typhimurium* kot v monokulturi.

Poleg tega nas je zanimalo, ali oksidativni stres vpliva na aktivacijo splošnega odziva na stres in posledično na sporulacijo pri bakteriji *B. subtilis* v interakciji s patogeno bakterijo. V sev s poročevalsko fuzijo promotorske regije P_{ctc} zvezano z genom za rumeni fluorescenčni protein smo vnesli še mutacijo v genu za katalazo *katA*. Rezultati so pokazali enak vzorec aktivnosti promotorja kot pri divjem tipu, zato smo sklepali, da oksidativni stres, uravnavan s katalazo, ni imel bistvenega vpliva na splošni odziv na stres pri bakteriji *B. subtilis*. Da bi preverili vpliv oksidativnega stresa na frekvenco sporulacije, smo določali število kolonijskih enot na trdnem gojišču. Za določanje deleža spor smo mono- in kokulture pred nacepljanjem izpostavljali temperaturi 80 °C za 30 minut. Rezultati so pokazali inhibicijo sporulacije pri mutanti v kokulturi, ki je bila enaka kot pri divjem tipu. Na podlagi tega smo sklepali, da izbris gena *katA* nima ključnega vpliva na inhibicijo sporulacije pri bakteriji *B. subtilis*.



Pripravljeni poročevalski sevi odpirajo možnosti za nadaljnje raziskave mehanizmov inhibicije sporulacije bakterije *B. subtilis* v interakciji z bakterijo *S. Typhimurium*. Prav tako je za boljše razumevanje, kako oksidativni stres vpliva na splošni odziv na stres in sporulacijo bakterije *B. subtilis* v interakciji, potrebno izvesti več poskusov v kombinaciji z drugimi regulatornimi mehanizmi.

Ključne besede: *Bacillus subtilis*, *Salmonella Typhimurium*, probiotiki, inhibicija sporulacije, splošni odziv na stres, oksidativni stres.

Viri

- Elshagabee F. M. F., Rokana N., Gulhane R. D., Sharma C., Panwar H. 2017. *Bacillus* as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1490, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01490>
- Lee N.-K., Kim W.-S., Paik H.-D. 2019. *Bacillus* strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. *Food Science and Biotechnology*, 28, 5: 1297–1305, <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00691-9>
- Patra S. D., Mohakud N. K., Panda R. K., Sahu B. R., Suar M. 2021. Prevalence and multidrug resistance in *Salmonella enterica Typhimurium*: an overview in South East Asia. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37, 11: 185, <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03146-8>
- Perez-Sepulveda B. M., Hinton J. C. D. 2025. Microbe Profile: *Salmonella Typhimurium*: the master of the art of adaptation. *Microbiology*, 171, 1: 001521, <https://doi.org/10.1099/mic.0.001521>
- Podnar E., Dendinovic K., Danevčič T., Lories B., Kovačec E., Steenackers H., Mandić-Mulec I. 2025. *Bacillus subtilis* ensures high spore quality in competition with *Salmonella Typhimurium* via the SigB-dependent pathway. *The ISME Journal*, 19, 1: wrf052, <https://doi.org/10.1093/ismejo/wraf052>



Plasmid engineering for efficient deletion of long DNA fragments in *Bacillus subtilis*

Neža Kovač¹, Luna Mavrič¹, Virginie Grosboillot¹, Anna Dragoš¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za mikrobiologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana

Genome engineering is a powerful tool for investigating bacterial physiology and regulatory networks by constructing strains with defined genetic characteristics. In particular, targeted removal of large chromosomal regions allows studying the contribution of mobile genetic elements, such as prophages, to bacterial phenotype and fitness. We hypothesised that using multiple single-guide RNAs (sgRNAs) would increase the yield of correctly edited clones compared to a single sgRNA. This project aimed to engineer the CRISPR-Cas9 plasmid pJOE8999 to contain up to four sgRNAs and to compare the efficiency of one and four sgRNAs in mediating targeted deletion of the SP β prophage, a 130 kbp element, from the genome of *Bacillus subtilis* MB8_B7. SP β is integrated into the host's *spsM* gene; its removal enables restoration of the interrupted gene and generation of a markerless, non-lysogenic strain.

The plasmid was therefore modified to contain an intact *spsM* gene as a homologous-recombination repair template and multiple sgRNA expression cassettes. Plasmid engineering was performed sequentially. (1) The original kanamycin-resistance cassette of pJOE8999 was switched to a spectinomycin-resistance (SpecR) cassette to remove a restriction site that interfered with cloning. (2) Two EagI restriction sites were introduced for sgRNA cloning. (3) The *spsM*-containing repair fragment was inserted between the two SfiI restriction sites present on the plasmid. For each step, the resulting intermediate constructs were propagated in *Escherichia coli* DH5 α and screened using colony PCR and restriction digestion. (4) One and four sgRNAs were cloned into the plasmid using a modified ASAP (Adaptable System for Assembly of multiplexed Plasmids) strategy involving PCR-on-ligation, followed by exonuclease treatment and, finally, multiple cycles of restriction-ligation for the final assembly within the plasmid.

The first three plasmid-engineering stages were successful, resulting in the intermediate construct pJOE8999 SpecR EagI *spsM*. The first steps of the ASAP workflow, cloning of each sgRNA and PCR amplification, were also successful. However, the final assembly of the single-sgRNA and four-sgRNA constructs could not be confirmed by restriction digestion nor colony PCR. Colony PCR products for the approximate size of the single-sgRNA and four-sgRNA constructs were not obtained. Further troubleshooting and optimization of the ASAP assembly are therefore required. Due to the limited project timeframe, transformation of *B. subtilis* MB8_B7 and subsequent SP β deletion and *spsM* restoration were not performed at this stage and remain objectives for future work.

Overall, the project established a modified pJOE8999 backbone suitable for further development and identified sgRNA assembly as the main technical bottleneck. Further optimisation of fragment digestion, vector dephosphorylation, purification, and ligation will be required before the system can be evaluated for efficient deletion of large genomic regions. Development of such a system could expand the tools available for large-scale, markerless



genome engineering in *B. subtilis* and facilitate studies of the effects of prophages and other large mobile genetic elements on bacterial physiology, fitness, and regulatory networks. Successful generation of an SP β -free strain would enable direct comparison of lysogenic and non-lysogenic bacteria and help clarify the contribution of SP β to the host phenotype in defined culture conditions.

Keywords: CRISPR-Cas9, pJOE8999, *Bacillus subtilis*, SP β prophage, *spsM*, multiplex sgRNA, ASAP cloning.



Characterization of functional SP β –phi3T chimeric temperate phages in *Bacillus subtilis*

Neža Kovač¹, Luna Mavrič¹, Valentina A. Floccari¹, Virginie Grosboillot¹, Anna Dragoš¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za mikrobiologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana

Bacteriophages (phages) are viruses that can bind and infect bacteria. Chimeric phages contain genetic material from different phage lineages and can arise through recombination between related phage genomes. They can originate when a bacterial host is simultaneously infected by multiple homologous phages. This allows genetic material from different phage genomes to be exchanged. This process increases phage diversity and can produce phages with different characteristics from ancestral phages. In particular, chimeric phages may retain essential features from their ancestors, such as the ability to infect specific bacterial hosts, integration sites, prophage induction, and the ability to alter host regulatory pathways and gene expression. Therefore, investigating the horizontal transfer of genetic material that contributes to the formation of chimeric phages can provide insight into phage evolution and phage–host interactions.

The *Bacillus subtilis* SP β -like phages phi3T and SP β provide a suitable model for studying these interactions. Phage phi3T integrates into the bacterial chromosome in the functional gene *kamA* and is associated with changes in host cell morphology and fitness. On the other hand, phage SP β , integrating into the functional gene *spsM*, does not significantly influence its host upon lysogeny. In this study, we tested potential SP β –phi3T chimeric phages for their ability to infect and lysogenize the *B. subtilis* P9_B1 strain (active prophage-free). We then characterized their integration location, effect on host morphology, growth and how their genomes were maintained within the bacterial host.

Five phage stocks of potential chimeras, selected based on their peculiar and diverse plaque morphologies, were initially re-generated, and their lysates were screened for stable plaque morphology. Four of the five were tested for their ability to lysogenize *B. subtilis* P9_B1. Candidate lysogens were screened by colony PCR targeting the phi3T transposase gene. They have also been analyzed for spontaneous and mitomycin C-triggered prophage induction, followed by plaque assays. Bacterial morphology was examined by microscopy, while growth was monitored by measuring OD₆₀₀ over 24 h. Phage chimeras' presence and their mosaic genomes were confirmed by Nanopore sequencing on lysates from both chimeric phages.

Two confirmed lysogens, carrying two chimeric phages M1 and M2, were obtained. Both produced infectious phage particles following spontaneous and mitomycin C-triggered induction, demonstrating that the phages remained functional. The two new chimeras showed characteristics from both ancestral phages. Both M1 and M2 showed a rod-shaped morphology, resembling both the wild-type strain and the lysogen for SP β , while they carried a transposase gene from phi3T. Both lysogens' growth assays largely overlapped with that of uninfected P9_B1 wild-type, indicating minimal effects on host growth, with only minor deviations during later growth stages.



Overall, the study identified two functional chimeric phages capable of infecting and producing infectious particles while causing only limited changes in host growth. These findings show that recombination between closely related temperate phages can generate mosaic phages with biological properties distinct from those of their ancestral phages and highlight the need for further analysis to study not merely their effect on the bacterial host, but also the phage–phage interplay upon superinfection.

Keywords: bacteriophages, chimeric phages, *Bacillus subtilis*, phi3T, SP β , lysogeny, phage recombination, phage-host interactions.



Uporaba fluorescenčnega barvila FITC za spremljanje infektivnosti bakteriofagov

Cene Ulaga Sterle¹, Ana Lisac²

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Študij biotehnologije, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

²Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Oddelek za kemijsko inženirstvo in tehniško varnost, Večna pot 113, 1000 Ljubljana

Bakteriofagi so virusi, ki specifično okužujejo bakterije in predstavljajo pomembno orodje v biotehnologiji (Salmond in Fineran, 2015). Za njihovo uporabo je ključno hitro in natančno določanje koncentracije aktivnih virusnih delcev ter spremljanje njihove stabilnosti. Tradicionalni "zlati standard" za to je metoda štetja plakov (PFU), ki temelji na biološki funkciji virusa, vendar zahteva dolgotrajno inkubacijo in onemogoča spremljanje v realnem času (Kropinski in sod., 2009). Hitrejša alternativa je fluorescenčno označevanje z barvili, kot je fluorescein izotiocianat (FITC), ki se kovalentno veže na primarne aminske skupine kapsidnih proteinov (Lakowicz, 2006). Namen raziskovalnega dela je bil ovrednotiti zanesljivost uporabe barvila FITC za kvantifikacijo in spremljanje infektivnosti morfološko raznolikih bakteriofagov T4, T7 in $\phi 6$ ter ugotoviti, ali fluorescenčni signal zanesljivo odraža biološko aktivnost virusov.

Bakteriofage smo izolirali, jih označili z barvilom FITC ter nevezano barvilo odstranili z dializo. Preučili smo vpliv barvanja na infektivnost fagov ter izmerili fluorescenčni signal v odvisnosti od koncentracije virusov. Nato smo 624 ur spremljali časovno stabilnost fluorescence in infektivnosti (z metodo PFU) pri dveh temperaturnih režimih: v hladilniku pri 4 °C v temi ter na sobni temperaturi (25 °C) ob stalni osvetlitvi. Za določanje PFU smo uporabili bakterijski gostiteljci *Escherichia coli* za faga T4 in T7 ter *Pseudomonas syringae* za faga $\phi 6$.

Postopek barvanja ni drastično vplival na infektivnost bakteriofagov T4 in $\phi 6$, medtem ko je pri fagu T7 povzročil skoraj desetkratni upad titra PFU. V sveže pripravljenih vzorcih je bila korelacija med intenziteto fluorescence in titrom PFU dobra, pri čemer je najvišjo vrednost dosegel fag T7 ($R^2 = 0,9489$). Pri dolgotrajnem shranjevanju na 4 °C v temi sta bila tako fluorescenčni signal kot infektivnost vseh treh fagov stabilna in v relativno dobri korelaciji. Nasprotno pa je pri 25 °C ob stalni osvetlitvi prišlo do razkoraka med metodama. Infektivnost je pri virusih hitro padla na nič (pri T7 po 168 urah, pri $\phi 6$ po 312 urah in pri T4 po 528 urah), medtem ko je bil fluorescentni signal še vedno prisoten.

Glavna ugotovitev raziskave je, da merjenje fluorescence FITC vodi v neoptimalnih ali stresnih pogojih okolja do lažno pozitivnih rezultatov glede števila infektivnih bakteriofagov. Ta namreč meri celokupno prisotnost virusne biomase, ne pa tudi biološke funkcionalnosti bakteriofagov. Metoda FITC označevanja je tako uporabna kot hitro dopolnilno orodje za sveže vzorce in v kontroliranih hladnih pogojih, medtem ko metoda PFU ostaja nenadomestljiv standard za natančno določanje koncentracije aktivnih bakteriofagov.

Ključne besede: bakteriofagi, fluorescenčno označevanje, FITC, infektivnost, metoda štetja plakov (PFU), stabilnost virusov.



Viri

- Kropinski A. M., Mazzocco A., Waddell T. E., Lingohr E., Johnson R. P. 2009. Enumeration of bacteriophages by double agar overlay plaque assay. V: Bacteriophages. Kropinski A. M., Clokie M. R. J. (ur.). Humana Press: 69–76, https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_7
- Lakowicz J. R. 2006. Principles of fluorescence spectroscopy. 3. izd. Springer, https://scian.cl/scientific-image-analysis/wp-content/uploads/2018/09/2006_PrinciplesOfFluorescenceSpectroscopy_Springer_Lakowicz-1.pdf (5. jul. 2026)
- Salmond G. P. C., Fineran P. C. 2015. A century of the phage: past, present and future. Nature Reviews Microbiology, 13, 12: 777–786, <https://doi.org/10.1038/nrmicro3564>



Mikrobiom invazivne vrste rebrače *Mnemiopsis leidyi*

Iza Veselko¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za mikrobiologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana

Mnemiopsis leidyi A. Agassiz, 1865 je tujerodna invazivna vrsta rebrače, ki se je preko ladijskega tovorniškega prometa iz atlantskih obal Severne in Južne Amerike razširila na številna področja evrazijskih morij (Malej in sod., 2017). Množično pojavljanje predstavnikov želatinoznega zooplanktona, med katerega uvrščamo tudi meduze, rebrače in salpe, narašča v svetovnem merilu (Lucas in sod., 2014). Razumevanje interakcij med rebračami in mikroorganizmi je bistvenega pomena, saj omogoča boljše razumevanje kroženja organske snovi v morskih ekosistemih in vpliva mikroorganizmov na populacijsko dinamiko meduz (Tinta in sod., 2021, 2023). Mukus, ki ga rebrače lahko izločajo v velikih količinah, zaradi obrambe ali prehranjevanja, lahko predstavlja ugodno ekološko nišo za mikrobo (Tinta in sod., 2021). Raziskave so pokazale, da so v mukusu pogosto prisotne bakterije iz razreda Gammaproteobakterij, med drugim pogosto rod *Vibrio* (Tinta in sod., 2019). Organska snov, ki se ob odmiranju rebrač sprosti v okolje, lahko predstavlja ugoden substrat za rast oportunističnih vrst morskih bakterij. Raziskava Tinta in sod., 2023 je pokazala, da rod *Vibrio* igra pomembno vlogo v procesu razgradnje odmrle biomase meduz, zato so raziskovalci želeli preučiti, ali rod *Vibrio* predstavlja tudi del mikrobioma živih rebrač. V okviru individualnega raziskovalnega projekta smo tako preučevali sestavo mikrobne združbe ter metabolno aktivnost pripadnikov rodu *Vibrio* v mukusu živih rebrač.

Vzorke rebrač smo nabrali 7. 8. in 23. 8. 2024 na 6 različnih lokacijah v Tržaškem zalivu. Skupno je bilo obdelanih 12 vzorcev rebrač (2 osebka na lokacijo) in 6 vzorcev okoliške morske vode. Za določanje metabolne aktivnosti smo vzorce inkubirali v pufru z metioninskim analogom L-homopropargilglicinom (HPG), ki so ga metabolno aktivne bakterije lahko vgradile v novo nastajajoče proteine. Nato smo vzorce fiksirali s formaldehidom, vzorce mukusa redčili 1:10 ter sonificirali in nato vse vzorce prefiltrirali na 0,2 µm polikarbonaten filter. Za določanje števila pripadnikov debla *Eubacteria* in razreda *Vibrio* smo vzorce v nadaljevanju inkubirali v hibridizacijskem pufru s fluorescenčno označenimi 16S rRNA sondami za dotični skupini. Za določanje števila vseh mikrobov smo uporabili ne-interkalirajoče barvilo 4'6-diamidino-2-phenylindole (DAPI), ki se veže na z adeninom in timinom bogata zaporedja v DNA. Pripravljene preparate smo pregledali pod epifluorescentnim mikroskopom in signale prešteli s pomočjo programa ImageJ.

Povprečna mikrobna abundanca v mukusu ($2,74 \pm 1,11E+06$ celic mL⁻¹) je bila večja od povprečne mikrobne abundance v okoliški morski vodi ($9,14 \pm 0,65 E+04$ celic mL⁻¹) (t-test parov, $p < 0,05$). Ta rezultat potrjuje hipotezo, da predstavlja mukus rebrač ugodno ekološko nišo za mikroorganizme (Tinta in sod., 2021).

Pripadniki debla *Eubacteria* so v povprečju predstavljali $10,74 \pm 4,15$ % vseh mikrobov mukusa, bakterije iz rodu *Vibrio* pa $5,69 \pm 2,54$ % vseh mikrobov in $59,99 \pm 31,17$ % vseh *Eubacteria* v mukusu. Rezultati tako nakazujejo, da pripadniki rodu *Vibrio* predstavljajo pomemben delež mikrobne združbe v mukusu rebrač.



V vzorcih mukusa je bilo v povprečju metabolno aktivnih $21,92 \pm 5,00$ % vseh mikrobov. Od vseh *Eubacteria* je bilo v mukusu v povprečju metabolno aktivnih $44,25 \pm 10,72$ %, od vseh *Vibrio* pa $84,87 \pm 9,14$ %. Rezultati nakazujejo, da je velik del populacije rodu *Vibrio* metabolno aktiven in je delež metabolno aktivnih *Eubacteria* (glede na vse *Eubacteria*) manjši kot delež metabolno aktivnih *Vibrio* (glede na vse *Vibrio*).

Rezultati raziskovalne naloge kažejo na pomembno zastopanost in visoko stopnjo metabolne aktivnosti bakterij iz rodu *Vibrio* v mukusu zdravih rebrač. V prihodnosti tako lahko služijo kot opora pri razumevanju sestave in funkcije mikrobioma ter vpliva rodu *Vibrio* na populacijsko dinamiko rebrač.

Ključne besede: *Mnemiopsis leidyi*, mikrobiom, mukus, mikrobna abundanca, metabolna aktivnost, *Vibrio*.

Viri

- Lucas C. H., Jones D. O. B., Hollyhead C. J., Condon R. H., Duarte C. M., Graham W. M., Robinson K. L., Pitt K. A., Schildhauer M., Regetz J. 2014. Gelatinous zooplankton biomass in the global oceans: geographic variation and environmental drivers. *Global Ecology and Biogeography*, 23, 7: 701–714, <https://doi.org/10.1111/geb.12169>
- Malej A., Tirelli V., Lučić D., Paliaga P., Vodopivec M., Goruppi A., Ancona S., Benzi M., Bettoso N., Camatti E., Ercolessi M., Ferrari C. R., Shiganova T. 2017. *Mnemiopsis leidyi* in the northern Adriatic: here to stay? *Journal of Sea Research*, 124: 10–16, <https://doi.org/10.1016/j.seares.2017.04.010>
- Tinta T., Kogovsek T., Klun K., Malej A., Herndl G. J., Turk V. 2019. Jellyfish-associated microbiome in the marine environment: exploring its biotechnological potential. *Marine Drugs*, 17, 2: 94, <https://doi.org/10.3390/md17020094>
- Tinta T., Klun K., Herndl G. J. 2021. The importance of jellyfish-microbe interactions for biogeochemical cycles in the ocean. *Limnology and Oceanography*, 66, 5: 2011–2032, <https://doi.org/10.1002/lno.11741>
- Tinta T., Zhao Z., Bayer B., Herndl G. J. 2023. Jellyfish detritus supports niche partitioning and metabolic interactions among pelagic marine bacteria. *Microbiome*, 11, 1: 156, <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01598-8>



Dokaz nehumanih parehovirusov v malih glodavcih, ujetih v Sloveniji v letu 2025

Luka Škabar¹, Rok Kogoj², Miša Korva²

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za mikrobiologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana

²Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

Parehovirusi (rod *Parechovirus*, družina *Picornaviridae*) so pestra družina malih, golih RNA-virusov, ki lahko okužijo številne gostitelje. Med njimi so dobro poznani človeški parehovirusi (*Parechovirus A*), ki jih pogosto dokažemo pri otrocih z gastroenteritisom, diarejo in okužbo dihal. Pri novorojenčkih lahko povzročajo zapleta, kot sta miokarditis in encefalitis. Manj je znanega o ostalih vrstah (B-F), med katerimi pa posebno pozornost vzbuja *Parechovirus B* (*Parechovirus beljungani*) oziroma Ljungan virus (LV), ki je bil prvotno opisan pri gozdni voluharici (*Myodes glareolus*), ujeti leta 1998 na Švedskem v okviru raziskave šestih smrtnih primerov miokarditisa pri 200 mladih tabornikih. Danes vemo, da je LV razširjen pri številnih vrstah malih sesalcev po vsej Evropi (Fevola in sod., 2020). Čeprav je bil eksperimentalno povezan z različnimi bolezenskimi stanji pri glodavcih, njegova morebitna vloga pri boleznih ljudi, vključno z nekaterimi nevrološkimi zapleti in okvarami plodu, ostaja predmet raziskav. Dejstvo, da so na Finskem dokazali protitelesa proti LV pri ljudeh (Jääskeläinen in sod., 2013) in prisotnost virusa v glodavcih v številnih evropskih državah ter posebej visoka prevalenca v severni Italiji (Fevola in sod., 2020), pa poudarjata pomen spremljanja njegove razširjenosti, genetske raznolikosti zaradi morebitnega zoonotskega potenciala tudi pri nas.

Cilj raziskave je bil pregledati glodavce različnih vrst, ujete v letu 2025 v Sloveniji, na prisotnost parehovirusov. V ta namen smo uporabili širokospektralni PCR v realnem času za parehoviruse (Nix in sod., 2008) in z njim testirali nukleinsko kislino (NK), izolirano iz mešanice organov posameznih glodavcev. Osebkke, kjer je bil izolat NK mešanice organov pozitiven, smo podrobneje analizirali še po posameznih organih. Za evalvacijo delovanja protokola smo uporabili klinične vzorce ljudi, v katerih smo predhodno s testom Respiratory Viruses 16-well (AusDiagnostics, Avstralija) dokazali *Parechovirus A*. V raziskavo smo vključili 49 glodavcev.

Parehoviruse smo dokazali pri 10/49 (20,4 %) glodavcev, in sicer pri 8 osebkih vrste *Apodemus flavicollis* (26,7 %) in pri po enem osebkju vrste *Microtus arvalis* (12,5 %) ter vrste *Myodes glareolus* (14,3 %). Pri pozitivnih osebkkih so bili vsi vzorci jeter pozitivni (10/10). Prav tako je bilo pozitivnih 80 % vzorcev vranic (8/10), 50 % vzorcev pljuč (5/10), 20 % vzorcev ledvic (2/10), 20 % vzorcev src (2/10) in 10 % vzorcev možganov (1/10). Najnižje vrednosti Ct smo praviloma zaznali v jetrih (bile so primerljive z vrednostmi v mešanici organov), zato lahko zaključimo, da so jetra (kot tudi mešanica organov) primeren vzorec za prihodnja presejalna testiranja.

Ker uporabljeni PCR v realnem času zaznava vse vrste rodu *Parechovirus*, test Respiratory Viruses 16-well pa le *Parechovirus A*, smo šest izbranih pozitivnih vzorcev dodatno testirali na *Parechovirus A*; vsi so bili negativni. Ti rezultati nakazujejo, da so v malih glodavcih dokazani parehovirusi najverjetneje virusi, ki krožijo med živalmi.



Raziskava tako predstavlja prvi uspešen dokaz prisotnosti parehovirusov pri glodavcih v Sloveniji ter pomembno izhodišče za nadaljnje spremljanje njihove razširjenosti, gostiteljskega spektra in morebitnega zoonotskega pomena. Ker širokospektralna metoda PCR v realnem času omogoča dokaz vseh vrst parehovirusov, ne omogoča pa identifikacije posamezne vrste, ostaja potreba po uporabi dodatnih metod, da bi potrdili, ali je v glodavcih iz te raziskave prisoten za človeka potencialno patogen LV ali gre za druge parehoviruse.

Ključne besede: *Parechovirus*, glodavci, prevalenca, Slovenija.

Viri

- Fevola C., Rossi C., Rosso F., Girardi M., Rosà R., Manica M., Delucchi L., Rocchini D., Garzon-Lopez C. X., Arnoldi D., Bianchi A., Buzan E., Charbonnel N., Collini M., Ādureje L., Ecke F., Ferrari N., Fischer S., Gillingham E. L. ... Hauffe H.C. 2020. Geographical distribution of Ljungan virus in small mammals in Europe. *Vector borne and zoonotic diseases*. 20, 9: 692–702, <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2542>
- Jääskeläinen A. J., Kolehmainen P., Voutilainen L., Hauffe H. C., Kallio-Kokko H., Lappalainen M., Tolf C., Lindberg A.M., Henttonen H., Vaheri A., Tauriainen S., Vapalahti O. 2013. Evidence of Ljungan virus specific antibodies in humans and rodents. *Journal of Medical Virology*. 85: 2001–2008, <https://doi.org/10.1002/jmv.23681>
- Nix W. A., Maher K., Johansson E. S., Niklasson B., Lindberg A. M., Pallansch M. A., Oberste M. S. 2008. Detection of all known parechoviruses by real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 46, 8: 2519–2524, <https://doi.org/10.1128/JCM.00277-08>



Zasnova in ureditev naravoslovne zbirke malih sesalcev Oddelka za biologijo (BF, UL)

Lenart Jonke Grabner¹, Franc Kljun¹, Žiga Fišer¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana

Biodiverzitetna kriza zahteva kakovostne in dostopne podatke o vrstah, ki so temelj za njihovo raziskovanje, spremljanje stanja in varstvo (Petersen in sod., 2021; GBIF, 2026). Mali sesalci (žužkojedi, netopirji, glodavci) imajo v ekosistemih ključno vlogo kot pomembni raznašalci semen, plenilci in vir hrane drugim živalim (Čepelka in Dokulilová, 2025). Temu navkljub so podatki o malih sesalcih v Sloveniji, z izjemo netopirjev, razmeroma pomanjkljivi, saj je večina nočno aktivnih, nekatere je težko določiti do vrste, sistematični državni monitoring pa ni vzpostavljen. Zadnji celovit pregled malih sesalcev je starejši od treh desetletij (Kryštufek, 1991). Novejši podatki so razpršeni v več virih, zato bo ključno njihovo povezovanje v državni biodiverzitetni informacijski sistem NarcIS (NarcIS, 2026). Namen pričujočega dela je bil zasnovati in urediti del naravoslovne zbirke malih sesalcev Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani ter standardizirati in digitalizirati spremljajoče podatke.

Omenjena zbirka nastaja od devetdesetih let 20. stoletja v okviru pedagoških in raziskovalnih dejavnosti in trenutno obsega skoraj 1500 primerkov. Večino so zbrali študenti med obveznimi terenskimi vajami in favnističnimi popisi ter na študentskih taborih in drugih prostovoljnih terenskih aktivnostih. Primerki izvirajo z območja celotne Slovenije, vendar je njihova prostorska razporeditev neenakomerna. Največ jih je bilo zbranih na Kočevskem, kjer terenske vaje že približno tri desetletja potekajo na isti lokaciji.

Kadavre primerkov smo odrli in pripravili preparate kožuščkov, preostanek pa po odstranitvi notranjih organov shranili v 70-odstotnem etanolu. Za pridobitev skeletov smo kadavre najprej posušili, nato pa jih izpostavili hroščem slaninarjem (*Dermestidae*). Dobljene skelete smo očistili ter jih opremili z novimi etiketami. Po značilnostih lobanje in zobovja smo preverili delovne taksonomske določitve. Vse spremljajoče podatke (identifikacijska številka, takson, lokacija, datum, legator, meritve zunanjih morfoloških znakov, stanje ohranjenosti lobanje, spodnje čeljusti in zobovja ...) smo združili v enotno digitalno preglednico.

Urejeni del zbirke trenutno obsega 203 skelete 20 vrst malih sesalcev, od tega 73 žužkojedov in 130 glodalcev. Med žužkojedi je 71 rovk šestih vrst, med glodalci pa 57 voluharic petih vrst, 63 miši šestih vrst in 10 polhov treh vrst. Najštevilčnejše so zastopane gozdna voluharica (*Clethrionomys glareolus*; 46 primerkov), gozdna rovka (*Sorex araneus*; 27) in rumenogrla miš (*Apodemus flavicollis*; 24). Za obdelavo in ureditev ostaja še več kot 1000 primerkov.

Vzpostavljeni protokol omogoča sistematično nadaljevanje urejanja zbirke in standardizirano vključevanje novih primerkov. Urejena zbirka bo osnova za nadaljnje pedagoško delo, saj odpira vrata za določevalne in morfometrične delavnice ter izdelavo spletnega anatomskega atlasa μ CT-posnetkov lobanj (npr., 3D Atlas členonožcev, 2025). Zbirka bo pomembna tudi v raziskovalnem smislu, saj omogoča proučevanje prostorskih in časovnih sprememb favne (npr. Delić in sod., 2013) ter morfometričnih znakov lobanj, po vključitvi v NarcIS pa dopolnitev



zemljevidov razširjenosti vrst ter večjo dostopnost in uporabnost podatkov za varstvo malih sesalcev v Sloveniji.

Ključne besede: naravoslovna zbirka, mali sesalci, žužkojedi, glodalci, lobanje.

Viri

3D Atlas členonožcev. 2025. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, <https://www.3datlas.si/> (18. avgust 2026).

Čepelka L., Dokulilová M. 2025. Ecological roles and forest management implications of small terrestrial mammals in temperate and boreal forests—a review. *Forests* 16, 6: 994, <https://doi.org/10.3390/f16060994>

Delić T., Luštrik R., Kljun F., Potočnik H. 2013. Species diversity and composition of small mammal communities in Goteniška gora (S Slovenia). *Natura Sloveniae*, 15, 1: 13–26, <https://doi.org/10.14720/ns.15.1.13-26>

GBIF. 2026. What is GBIF? Global Biodiversity Information Facility, <https://www.gbif.org/what-is-gbif> (3. avgust 2026).

Kryštufek B. 1991. Sesalci Slovenije. Ljubljana, Prirodoslovni muzej Slovenije

Kryštufek B., Tome D. 1997. Unexpected record of pygmy white-toothed shrew *Suncus etruscus* in Central Slovenia (Insectivora, Mammalia). *Annales. Series Historia Naturalis*, 7, 11: 215–218.

NarcIS. ARSO – Agencija Republike Slovenije za okolje, <https://narcis.gov.si> (3. avgust 2026).

Petersen T. K., Speed J. D. M., Grøtan V., Austrheim G. 2021. Species data for understanding biodiversity dynamics: the what, where and when of species occurrence data collection. *Ecological Solutions and Evidence*, 2, 1: e12048, <https://doi.org/10.1002/2688-8319.12048>



Vpliv kalcitriola na izražanje izbranih imunskih genov v epitelnih celicah mlečne žleze goveda po imunostimulaciji

Matic Hrabar¹, Ida Djurdjevič², Jernej Ogorevc^{1,2}

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Študij biotehnologije, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

²Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, 1230 Domžale

Mastitis ali vnetje mlečne žleze zaradi zmanjšane prireje, slabše kakovosti mleka, postopkov zdravljenja ter izločanja živali povzroča veliko gospodarsko škodo v mlekarški industriji. Zdravljenje mastitisa je zapleteno zaradi pestrega nabora povzročiteljev (npr. bakterije iz rodu *Staphylococcus* in *Streptococcus*, *Escherichia coli*). Za preprečevanje in zdravljenje okužb se uporabljajo antibiotiki, vendar njihova uporaba povečuje odpornost bakterijskih sevov, kar ogroža javno zdravje. Številne raziskave se zato usmerjajo v iskanje pristopov, s katerimi bi lahko izboljšali delovanje gostiteljevih lastnih obrambnih mehanizmov in tako povečali odpornost proti mastitisu (Debruyn in sod., 2025).

Znano je, da lahko vitamin D vpliva na prirojeni in pridobljeni imunski odziv preko aktivacije receptorja za vitamin D (VDR), ki se izraža tudi v epitelnih celicah mlečne žleze goveda. Te predstavljajo pomembno obrambo pred patogeni, saj so sposobne prepoznave s patogeni povezanih molekularnih vzorcev, proizvodnje citokinov in protimikrobnih molekul ter regulacije imunskega odziva (Tiraboschi in sod., 2026).

V poskusu smo želeli preveriti, kako dodatek vitamina D v gojišče vpliva na imunski odziv primarnih epitelnih celic mlečne žleze goveda (pbMEC), vzpostavljenih iz kravjega mleka. Čeprav so različne študije pokazale, da vitamin D lahko modulira (zavre ali poveča) imunski odziv, so se raziskave osredotočale predvsem na imunske celice (Merriman in sod., 2018).

Poskus smo izvedli v treh tehničnih ponovitvah. Celicam smo 24 ur pred imunostimulacijo v gojišče dodali 1,25-dihidroksivitamin D₃ (kalcitriol) v končni koncentraciji 10 ali 100 nM in jih imunostimulirali z dodatkom endotoksina lipopolisaharida (LPS). LPS aktivira z mieloidnim diferenciacijskim dejavnikom (MYD88) posredovano signalno pot jedrnega transkripcijskega dejavnika κB (*NF- κB*), kar povzroči izražanje genov za vnetne citokine, kot so *IL-6*, *IL-8* in *TNF- α* (Khan in sod., 2020).

Po imunostimulaciji z LPS (3 in 24 h) smo iz pbMEC izolirali celotno RNA ter pripravili cDNA knjižnice. Izražanje izbranih genov smo določili s kvantitativnim PCR (qPCR) po metodi $2^{-\Delta\Delta C_t}$ (Livak in Schmittgen, 2001). Za normalizacijo izražanja izbranih genov smo uporabili referenčna gena *GAPDH* ter *ACTB*.

Tri ure in 24 h po imunostimulaciji z LPS so bili citokini *TNF- α* , *IL-8* in *IL-6* v vseh vzorcih z dodanim kalcitriolom višje izraženi kot v vzorcih brez kalcitriola, pri čemer je bilo njihovo izražanje bolj povečano 3 h po imunostimulaciji in ob dodatku nižje koncentracije kalcitriola (10 nM) v gojišče ($p \leq 0,05$). Izražanje *MYD88* je bilo 24 h po imunostimulaciji v vzorcih z dodanim kalcitriolom nižje, izražanje *NF- κB* pa višje kot v kontrolnih vzorcih ($p \leq 0,05$).

Zaključimo lahko, da je dodatek vitamina D v gojišče v preučevanih časovnih točkah povečal izražanje genov za vnetne citokine v pbMEC ter 24 h po imunostimulaciji zmanjšal izražanje



MYD88, kar bi lahko nakazovalo na zaviranje imunskega odziva v kasnejših fazah. V primeru kratkotrajne okrepitve lokalnega imunskega odziva ob okužbi bi le-ta lahko pripomogla k hitrejši zaznavi patogenov ter privabljanju imunskih celic na mesto okužbe, kar bi lahko povečalo odpornost proti patogenom. Za potrditev dejanskega biološkega učinka kalcitriola v pbMEC so potrebne dodatne potrditvene raziskave v več časovnih točkah, različnih koncentracijah kalcitriola in z uporabo več različnih celičnih linij ter različnih virulenčnih dejavnikov oziroma patogenov.

Ključne besede: mastitis, kalcitriol, prirojena imunost, govedo, mlečna žleza.

Viri

- Debruyne E., Ghumman N. Z., Peng J., Tiwari H. K., Gogoi-Tiwari J. 2025. Alternative approaches for bovine mastitis treatment: A critical review of emerging strategies, their effectiveness and limitations. *Research in Veterinary Science*, 185: 105557, <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2025.105557>
- Khan M. Z., Khan A., Xiao J., Ma J., Ma Y., Chen T., Shao D., Cao Z. 2020. Overview of research development on the role of NF- κ B signaling in mastitis. *Animals*, 10, 9: 1625, <https://doi.org/10.3390/ani10091625>
- Livak K. J., Schmittgen T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25, 4: 402–408, <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Merriman K. E., Powell J. L., Santos J. E. P., Nelson C. D. 2018. Intramammary 25-hydroxyvitamin D3 treatment modulates innate immune responses to endotoxin-induced mastitis. *Journal of Dairy Science*, 101, 8: 7593–7607, <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14143>
- Tiraboschi G., Fernandez M., Isaac P., Breser M. L., Porporatto C., Bohl L. P. 2026. Vitamin D metabolites reshape bovine mammary epithelial responses relevant to mastitis through host-directed mechanisms. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 16: 1815096, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2026.1815096>



Od obogatenega okolja do anhedonije: vpliv izgube obogatitve na obnašanje laboratorijskih miši

Tjaša Ponikvar¹, Maša Čater¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, 1230 Domžale

Okolje, v katerem so nastanjene laboratorijske miši, lahko pomembno vpliva na njihovo dobrobit, obnašanje in rezultate raziskav. Obogatitev okolja (OO) omogoča živalim več možnosti za izražanje naravnega obnašanja, vendar so posledice njene nenadne odstranitve manj raziskane. Izguba obogatitve lahko predstavlja stresor in vpliva na razvoj anhedoniji podobnega obnašanja, pri čemer moramo upoštevati tudi razlike med spoloma. Namen raziskave je bil preučiti vpliv OO in njene izgube na telesno maso, zauživanje krme, pitje vode in na razvoj anhedoniji podobnega obnašanja pri laboratorijskih miših ter ugotoviti morebitne razlike med spoloma.

V raziskavo je bilo vključenih 36 miši linije C57BL/6JolaHsd (18 samic in 18 samcev). Postopek je trajal tri mesece. V prvem mesecu so bile vse miši nastanjene v standardnem okolju, nato pa naključno razporejene v tri skupine. Referenčna skupina je bila v drugem in tretjem mesecu stalno nastanjena v OO, negativna kontrolna skupina je ves čas ostala v standardnem okolju, pri tretji skupini pa je bila OO v tretjem mesecu odstranjena. Standardno okolje je vključevalo kletko, nastilj in gnezdilni material, v OO so bili v kletko dodani tunel, hiška in dodatni papirnati gnezdilni material.

Tedensko smo spremljali telesno maso, zauživanje krme in pitje vode. Anhedoniji podobno obnašanje smo ocenjevali s saharoznim preferenčnim testom (SPT), pri katerem so imele miši hkrati na voljo navadno vodo in 2 % raztopino saharaže. Podatke smo analizirali z dvosmerno analizo variance z večkratnimi meritvami, za analizo SPT pa smo uporabili model mešanih učinkov. Za naknadne primerjave smo uporabili Tukeyjev test.

Telesna masa miši se je skozi postopek povečevala, pri čemer je bil vpliv bivalnega okolja izrazitejši pri samcih. V tretjem mesecu so bili samci v OO statistično značilno lažji in so imeli manjši prirast telesne mase kot samci v standardnem okolju. Pri samicah razlik med skupinami nismo opazili. Samci v OO so v tretjem mesecu zaužili manj krme kot samci v standardnem okolju, medtem ko pri samicah razlik ni bilo. Vpliva bivalnega okolja na pitje vode nismo zaznali.

Kljub razlikam v telesni masi in zauživanju krme pri saharozni preferenci nismo ugotovili statistično značilnih razlik niti pri samcih in niti pri samicah. Prav tako odstranitev OO ni povzročila pomembnih sprememb v drugih spremljanih parametrih.

Zaključimo lahko, da se samci in samice na bivalno okolje odzivajo različno, pri čemer je bil vpliv OO na telesno maso in zauživanje krme izrazitejši pri samcih. Niti stalna izpostavljenost OO niti njena odstranitev nista bili povezani z razvojem anhedoniji podobnega obnašanja. Ugotovitve poudarjajo pomen upoštevanja spola in individualnih razlik pri raziskovanju vpliva bivalnega okolja na laboratorijske miši.

Ključne besede: laboratorijske miši, obogatitev okolja, izguba obogatitve, anhedonija, spolne razlike, obnašanje.



Does exposure to sublethal doses of pesticide drive reproductive behaviour in the spider *Dolomedes fimbriatus*?

Nika Justin¹, Simona Kralj-Fišer^{2,3}, Franco Cargnelutti²

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana

²Znanstvenoraziskovalni center Slovenske akademije znanosti in umetnosti, Biološki inštitut Jovana Hadžija, Zagorica 20, 1292 Ig

³Univerza na Primorskem, Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Oddelek za psihologijo, Glagoljaška 8, 6000 Koper

Intensive agricultural practices place over 61% of Europe's agricultural land at high risk of pesticide contamination, severely threatening wildlife in aquatic and terrestrial ecosystems (Právělie in sod., 2024; Tang in sod., 2021). Current ecotoxicological risk assessments predominantly focus on mortality, often overlooking sublethal effects that can significantly influence wildlife populations by causing various physiological, behavioural, and ecological disruptions (Straub in sod., 2020). Organisms exposed to sublethal pesticide doses may allocate more energy to detoxification, creating trade-offs between growth, maintenance, and reproduction that could ultimately reduce population viability (Aulsebrook in sod., 2020; Harshman in Zera, 2007). Here, we investigated how waterborne exposure to sublethal concentrations of the widely applied fungicide azoxystrobin (AZX) affects the mating behaviour and reproductive performance of the great raft spider (*Dolomedes fimbriatus*).

To examine the effects of AZX exposure on male mating behaviour and reproductive outcomes, we collected subadult *D. fimbriatus* spiders from a semi-aquatic environment near Kostanjevica na Krki in southeastern Slovenia (45.87777° N, 15.43587° E). Upon sex determination, we randomly assigned subadult males to one of four experimental groups. We exposed them for 15 days to an ecologically relevant AZX concentration (0.4 µg/L), two higher experimental concentrations (4.0 and 40.0 µg/L), or an untreated control. Following this exposure period, we waited until the subadult males reached adulthood, and we conducted two-hour mating trials, where we paired a single male with an untreated female in a mating arena and video-recorded their interactions for behavioural analysis. Specifically, we monitored latency to courtship and mating, mating occurrence, total number of male spider mounts, copulation duration, number of female attacks, and occurrence of cannibalism. For those pairs that successfully copulated, we also recorded several post-copulatory variables, such as oviposition latency, egg number, and egg-sac weight. Finally, we extracted pesticide residues from experimental male tissues using an optimized micro-QuEChERS protocol and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) to detect and quantify AZX. We analysed the behavioural and reproductive data within a Bayesian framework utilizing the brms package to fit generalized linear and generalized linear mixed-effects models.

Sublethal AZX exposure did not affect the measured pre-copulatory behaviours, such as latency to courtship or mating, nor did it alter copulation occurrence or duration at the tested concentrations. Instead, sexual mass dimorphism strongly predicted mating and cannibalism occurrence. Males were significantly more likely to copulate as their body mass increased relative to that of the females. Greater relative body mass also reduced the likelihood that females would cannibalize males, although females tended to direct more attacks towards



relatively heavier males. Males with an intermediate mass relative to females made the most mounting attempts, revealing a nonlinear relationship between relative male mass and mounting activity.

Post-copulatory outcomes in females that mated with experimental males also showed no detectable response to AZX exposure. The male exposure treatment did not affect female oviposition probability or latency, egg number, or egg-sac weight. Thus, under our experimental conditions, sublethal AZX exposure in males did not measurably affect their mating behaviour or subsequent female reproductive investment in *Dolomedes fimbriatus*.

Keywords: Reproductive behaviour, fungicide Azoxystrobin, spider *Dolomedes fimbriatus*.

References

- Aulsebrook L. C., Bertram M. G., Martin J. M., Aulsebrook A. E., Brodin T., Evans J. P., Wong B. B. 2020. Reproduction in a polluted world: implications for wildlife. *Reproduction*, 160, 2: R13–R23, <https://doi.org/10.1530/REP-20-0154>
- Harshman L. G., Zera A. J. 2007. The cost of reproduction: The devil in the details. *Trends in Ecology & Evolution*, 22, 2: 80–86, <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.10.008>
- Prăvălie R., Borrelli P., Panagos P., Ballabio C., Lugato E., Chappell A., Niculiță M., Birsan M. V. 2024. A unifying modelling of multiple land degradation pathways in Europe. *Nature Communications*, 15, 1: 3862, <https://doi.org/10.1038/s41467-024-48206-3>
- Straub L., Strobl V., Neumann P. 2020. The need for an evolutionary approach to ecotoxicology. *Nature Ecology & Evolution*, 4, 7: 895–895, <https://doi.org/10.1038/s41559-020-1182-1>
- Tang F. H. M., Lenzen M., McBratney A., Maggi F. 2021. Risk of pesticide pollution at the global scale. *Nature Geoscience*, 14, 4: 206–210, <https://doi.org/10.1038/s41561-021-00712-5>



Vpogled v življenjske strategije slepih postranic (*Amphipoda: Niphargus*)

Aleksander Kogej¹, Ester Premate¹, Mirna Bilas¹, Gregor Bračko¹, Teo Delić¹, Žiga Fišer¹, Klara Gajšek¹, Anja Kos¹, Anja Pekolj², Behare Rexhepi¹, Maja Zagmajster¹, Cene Fišer¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana

²Zavod Republike Slovenije za varstvo narave, Tobačna ulica 5, 1000 Ljubljana

Življenjske strategije (ang. life histories) opisujejo optimizacijo razporejanja energije med preživetje, rast in razmnoževanje. Lastnosti, vključene v te procese, imenujemo "znaki, povezani z življenjskimi strategijami" (ang. life history traits). Pomembni znaki so npr. starost in velikost ob spolni zrelosti, življenjska doba, število in velikost potomcev. Znaki življenjskih strategij neposredno vplivajo na fitnes posameznika ter tudi na populacijsko dinamiko in vlogo populacije oz. vrste v ekosistemu. Tako je poznavanje življenjskih strategij pomembno v številnih bioloških disciplinah, od evolucijske biologije do ekosistemske ekologije ter varstvene biologije (Venarsky, 2023).

V primerjavi s površinskimi vrstami so znaki povezani z življenjskimi strategijami pri podzemeljskih vrstah slabo poznani (Venarsky, 2023). Primerjalnih študij življenjskih strategij med površinsko podzemnimi pari vrst skoraj ni, deloma zaradi omejenega dostopa do podzemnih populacij in deloma zaradi njihovega težavnega gojenja v laboratorijskih pogojih, počasnega razvoja in dolgoživosti podzemnih vrst (Fišer, 2019).

V tej študiji smo kvantificirali verjetnost preživetja, telesno dolžino, stopnjo rasti, starost ob pojavu sekundarnih spolnih znakov ter vzorce levitev in prehranjevanja treh vrst slepih postranic, *N. balcanicus*, *N. spoeckeri* in *N. stygius*. Gavidne samice vseh vrst smo iz narave prenesli v laboratorij, kjer so se izvalili mladiči. Skupno smo primerjali 109 mladičev *N. balcanicus* (2 samici), 81 mladičev *N. stygius* (7 samic) in 36 mladičev *N. spoeckeri* (3 samice). Mladiče smo ločili posamezno po petrijevkah, jih tedensko pregledali ter zabeležili njihovo stanje (živ/mrtev), morebitno levitev (lev prisoten/odsoten) ter prehranjevanje (ali je hrano pojedel v celoti, deloma ali sploh ne). Mesečno smo izbranim mladičem izmerili telesno dolžino. Zbiranje podatkov je potekalo od sprostitev iz valilnika do dveh let starosti.

Dobljeni rezultati kažejo, da se vrste med sabo razlikujejo v določenih znakih življenjskih strategij. Verjetnost preživetja je do 50 % upadla po 140 dneh po sprostitvi iz valilnika pri *N. balcanicus*, po 122,5 dneh pri *N. spoeckeri* in šele po 335 dneh pri *N. stygius*. Mladiči *N. balcanicus* so se povprečno prvič levili pri starosti $83,6 \pm 25,8$ dni, *N. stygius* pa pri starosti $39,1 \pm 33,5$ dni (pri *N. spoeckeri* zanesljivih podatkov o starosti ob prvi levitvi ni). Mladiči *N. balcanicus* so bili ob izvalitvi večji od ostalih dveh vrst. Njihova povprečna telesna dolžina je znašala $4,06 \pm 0,57$ mm, pri *N. spoeckeri* $2,00 \pm 0,05$ mm in pri *N. stygius* $2,12 \pm 0,07$ mm. Pri *N. balcanicus* smo pojav spolnih znakov opazili pri 17 mladičih. Najmlajša je bila samica (595 dni), najmanjši pa samec (15,24 mm). Pri *N. stygius* smo jih opazili pri štirih mladičih. Najmlajša (315 dni) oz. najmanjša (5,80 mm) sta bila samca.

Pridobljeni podatki so pomembni za razumevanje populacijskih dinamik vrst v naravnem okolju, kar je ključno za njihovo varovanje. Prav tako smo pokazali, da je večletna reja v laboratoriju od izvalitve do spolne zrelosti in naprej mogoča za več vrst slepih postranic.



Pridobljene izkušnje so temelj za nadaljnje dolgoročno sistematično raziskovanje znakov življenjskih strategij tudi drugih vrst rodu. Pridobljeno znanje o reji v standardiziranih pogojih je pomembno tudi za izvedbo vedenjskih, ekoloških in ekotoksikoloških študij.

Ključne besede: življenjske strategije, rast in razvoj, podzemlje, slepe postranice, Niphargidae.

Viri

- Fišer C. 2019. Life histories. V: Encyclopedia of Caves. 3rd ed. White W. B., Culver D. C., Pipan T. (ur.). London, Academic Press: 652–657, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814124-3.00077-7>
- Venarsky M., Niemiller M. L., Fišer C., Saclier N., Moldovan O. T. 2023. Life histories in groundwater organisms. V: Groundwater Ecology and Evolution. 2nd ed. Mallard F., Griebler C., Rétaux S. (ur.). London, Elsevier: 439–456, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819119-4.00013-5>



Uporaba molekularnih označevalcev in postopkov ohranjanja živosti peloda pri žlahtnjenju hibridnih sort koruze (*Zea mays*)

Nejc Pelko¹, Jan Vanék², Luka Šubic¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Študij biotehnologije, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

²Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za mikrobiologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana

Koruza (*Zea mays* L.) je ena najpomembnejših poljščin na svetu, saj predstavlja pomemben vir hrane za ljudi in krme za živali (Zrakić in sod., 2017). Spada v družino trav (*Poaceae*), kamor uvrščamo tudi druge gospodarsko pomembne žitarice, kot sta riž (*Oryza sativa*) in pšenica (*Triticum aestivum*). Današnja koruza je rezultat več tisočletij dolgega procesa udomačevanja in žlahtnjenja njenih divjih prednikov.

Vremenske razmere v Sloveniji in po svetu postajajo iz leta v leto vse manj ugodne ter vse pogostejše nihajo med različnimi ekstremi. Zato sta razvoj sodobnih žlahtniteljskih metod in pridobivanje novih hibridnih sort, prilagojenih na spreminjajoče se okoljske razmere, nujno potrebna.

Pri vzgoji hibridov je ključnega pomena uporaba genetsko čistih oziroma homozigotnih starševskih linij, ki jih medsebojno križamo (Rudolf Piliš in sod., 2019). Uspešnost križanja lahko omejuje časovna neusklajenost metličenja in svilanja sicer genetsko kompatibilnih rastlin (Carter in sod., 2025). Učinkovito žlahtnjenje zato zahteva zanesljivo genetsko karakterizacijo čistih linij ter razvoj postopkov, ki omogočajo križanje rastlin z neusklajenim časom cvetenja.

V raziskavi smo proučevali pet genotipov koruze (3328, 3337, 3349, 3362 in 3379) iz Genske banke Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Genetsko čistost genotipov smo določali s pomočjo štirih mikrosatelitnih označevalcev (angl. *Simple Sequence Repeats* – SSR). Z namenom podaljšanja živosti cvetnega prahu smo proučevali vpliv različnih temperatur shranjevanja. Cvetni prah smo shranjevali pri 6 °C, –20 °C in sobni temperaturi, njegovo živost pa smo v različnih časovnih intervalih določali z uporabo barvila MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijev bromid).

Analiza z mikrosatelitnimi označevalci je pri vseh proučevanih rastlinah pokazala prisotnost ene alelne oblike na posameznem lokusu, kar potrjuje njihovo genetsko čistost. Razlike v dolžini pomnoženih fragmentov so hkrati omogočile razlikovanje med posameznimi genotipi. Pri kratkotrajnem shranjevanju peloda se je kot najučinkovitejša izkazala temperatura 6 °C. Genotip 3328 je visoko stopnjo živosti ohranil tudi po petih dneh shranjevanja, medtem ko je genotip 3337 živost ohranjal najdlje, in sicer sedem dni. Med genotipi smo opazili izrazite razlike v obstojnosti peloda, pri čemer so na njegovo začetno in kasnejšo živost vplivale tudi vremenske razmere.

Naše ugotovitve so pomembne predvsem z vidika načrtovanja učinkovitega žlahtnjenja hibridov. Molekularna karakterizacija omogoča zanesljivo izbiro genetsko čistih starševskih linij, medtem ko shranjevanje peloda v ustreznih pogojih omogoča premostitev časovne neusklajenosti cvetenja med rastlinami. S povezovanjem obeh pristopov je mogoče olajšati tudi določanje starševstva potomcev ter učinkoviteje izkoristiti razpoložljivi genetski potencial. Raziskava tako predstavlja izhodišče za nadaljnji razvoj hitrejših, zanesljivejših in učinkovitejših postopkov pridobivanja novih hibridnih sort koruze.

Ključne besede: SSR označevalci, mikrosatelitni označevalci, žlahtnjenje, koruza, PCR.



Viri

- Carter J. D., Dinwiddie J. A., Hill-Skinner S. E., Polge N. D., Fajalia A. I., Hodges G. R., Hone J. H. E., Lai S. C. S., Medeiros D. B., Langer L. O. E., Besse I. S., Gonzalez C. M., Woodall T. A., Skibbe D. S. 2025. Development of accessible and scalable maize pollen storage technology. *Communications Biology*, 8, 1: 397, <https://doi.org/10.1038/s42003-025-07864-9>
- Rudolf Piliš K., Petkovšek M., Jakše J., Štajner N., Murovec J., Bohanec B. 2019. Proposal of a new hybrid breeding method based on genotyping, inter-pollination, phenotyping and paternity testing of selected elite F1 hybrids. *Frontiers in Plant Science*, 10, <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01111>
- Zrakić M., Hadelan L., Prišenk J., Levak V., Grgić I. 2017. Tendencije proizvodnje kukuruza u svijetu, Hrvatskoj i Sloveniji. *Glasnik Zaštite Bilja*, 40, 6: 78–85, <https://doi.org/10.31727/gzb.40.6.9>



Vpliv blanširanja v kombinaciji z ultrazvokom in UV-C obsevanjem na kakovost odmrznjenega krompirja

Tinkara Golob¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

Živilska industrija se sooča z naraščajočimi zahtevami potrošnikov po varni in kakovostni hrani, kar spodbuja uvajanje novih tehnologij predelave (Priyadarshini in sod., 2019). Konvencionalno termično blanširanje sicer učinkovito inaktivira encime in mikroorganizme, vendar hkrati poslabša barvo, teksturo in zmanjša hranilno vrednost izdelka (Fellows, 2017). Olupljen in narezan krompir je zaradi večje površine še posebej dovzeten za encimsko porjavenje, ki ga povzročata encima polifenol oksidaza (PPO) in peroksidaza (POD) (Vitti in sod., 2011), zato se v zadnjem času preučuje kombiniranje blanširanja z blagimi, inovativnimi tehnologijami, kot sta ultrazvok (UZ) in UV-C obsevanje, ki lahko poleg ohranjanja kakovosti skozi skladiščenje tudi učinkovito skrajšajo čas obdelave (Xiao in sod., 2017; Ciurzyńska in sod., 2021).

Namen raziskave je bil ovrednotiti vpliv blanširanja, samostojno ali v kombinaciji z UV-C obsevanjem in/ali uporabo ultrazvoka, na videz, barvo (CIE L*, a*, b*) in teksturo odmrznjenih olupljenih vzorcev krompirja sort Evolution in Red Lady. Vzorci krompirja v obliki cilindrov premera 2 cm so bili izpostavljeni blanširanju pri temperaturi 85°C v trajanju 0, 10, 60 in 180 sekund, nato zamrznjeni pri -18 °C in pred meritvami odmrznjeni pri sobni temperaturi. Barva je bila izmerjena s spektrofotometrom v barvnem prostoru CIE L*, a*, b*, tekstura pa z analizatorjem teksture Brookfield LFRA 1500 s penetracijskim testom. Statistična značilnost razlik med obravnavanji je bila preverjena z enosmerno analizo variance (ANOVA) in Tukeyjevim testom ($p < 0,05$).

Rezultati kažejo, da kratek čas obdelave (10 s) ni zadostoval za preprečitev encimskega porjavenja pri nobeni od obdelav, kar je skladno z ugotovitvami Nguyen in sod. (2019). Vidne izboljšave videza so bile opažene šele pri daljših časih obdelave (≥ 60 s), zlasti pri kombinaciji blanširanja, UV-C sevanja in ultrazvoka. Meritve barve so pokazale, da sta blanširanje v kombinaciji z UV-C obsevanjem najbolj ohranila svetlost barve (L*) vzorcev pri vseh preučevanih časih, kar nakazuje na stabilizacijo barve zaradi inaktivacije oksidativnih encimov (Esua in sod., 2020; Cristianini in sod., 2021). Parameter a* se je z daljšanjem časa obdelave zniževal proti negativnim vrednostim, kar kaže na zmanjšanje porjavenja. Glede teksture samostojno blanširanje ter kombinacija z UV-C obsevanjem ali ultrazvokom nista pomembno vplivala na teksturo vzorcev, medtem ko je hkratna uporaba vseh treh obdelav (blanširanje, UV-C, ultrazvok) tkivo znatno zmečkala, še posebej po 180 sekundah, kar bi lahko pripisali sinergističnemu učinku kavitacije ultrazvoka in delovanja UV-C obsevanja na celične stene (Esua in sod., 2020).

Kombinacija blanširanja z inovativnimi tehnologijami omogoča boljše ohranjanje kakovosti odmrznjenega krompirja kot samo blanširanje. Za ohranjanje barve se je kot najučinkovitejša izkazala kombinacija UV-C obsevanja in blanširanja, medtem ko je bil za ohranjanje teksture najboljši način obdelave kombinacija ultrazvoka in blanširanja. Pri kombinaciji vseh treh postopkov se teksturne lastnosti najbolj poslabšajo, saj pride do znatnega mehčanja tkiva.



Ugotovitve potrjujejo, da je združevanje več inovativnih postopkov predelave obetaven pristop za ohranjanje kakovosti zamrznjenih krompirjevih predvsem teksture in barve.

Ključne besede: krompir, encimsko porjavenje, blanširanje, UV-C, ultrazvok.

Viri

- Ciurzyńska A., Falacińska J., Kowalska H., Kowalska J., Galus S., Marzec A., Domian E. 2021. The effect of pre-treatment (blanching, ultrasound and freezing) on quality of freeze-dried red beets. *Foods*, 10, 1: 132, <https://doi.org/10.3390/foods10010132>
- Cristianini M., Cruz A., Prudêncio A., Esmerino E., Rodrigues S., Pimentel T. 2021. Emerging technologies in food processing. <https://encurtador.com.br/Dzk73>
- Esua O., Queixo N., Yusof Y., Sukor R. 2020. A review on individual and combined UV-C radiation and ultrasound technologies in post-harvest handling of fruits and vegetables. *Processes*, 8, 11: 1433, <https://doi.org/10.3390/pr8111433>
- Fellows P. J. 2017. Food processing technologies: Principles and practices. 4 Cambridge, MA: Woodhead Publishing, Elsevier.
- Nguyen T., Thanh T., Lam T., Bach L. 2019. Water blanching conditions on the quality of green asparagus butt segment (*Asparagus officinalis* L.). *Materials Today: Proceedings*, 18: 4799–4809, <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.07.468>
- Priyadarshini A., Rajauria G., O'Donnell C. P., Tiwari B. K. 2019. Emerging food processing technologies and factors impacting their industrial adoption. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59, 19: 3082–3101.
- Vitti M. C. D., Sasaki F. F., Miguel P., Kluge R. A., Moretti C. L. 2011. Activity of enzymes associated with the enzymatic browning of minimally processed potatoes. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54, 983–990.
- Xiao H. W., Pan Z., Deng L. Z., El-Mashad H. M., Yang X. H., Mujumdar A. S., Gao Z. J., Zhang Q. 2017. Recent developments and trends in thermal blanching – A comprehensive review. *Information Processing in Agriculture*, 4, 2: 101–127. <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.04.002>



Vsebnost kofeina in drugih metilksantinov v praženih kavah na slovenskem trgu

Gal Žgur¹, Agnes Kresevič¹, Mateja Lušnic Polak¹

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

Na slovenskem in evropskem trgu proizvajalcem mlete pražene kave na deklaraciji ni potrebno navajati vsebnosti kofeina in drugih metilksantinov. Posledično potrošnik ne more vedeti, koliko metilksantinov zaužije s skodelico kave, niti presoditi, ali je njihov vnos znotraj priporočenih vrednosti. V ta namen smo v štirih komercialnih vzorcih kav določili vsebnost kofeina, teobromina in teofilina. Analizirali smo tri vzorce mlete pražene kave vrste arabica in vzorec brezkofeinske kave, prav tako vrste arabica.

Za določanje metilksantinov smo uporabili metodo, ki jo opisujejo Adamson in sod. (1999) z nekaterimi prilagoditvami ekstrakcije.

V centrifugirke Falcon smo zatehtali 0,1 g mlete kave in dodali 5 mL mešanice acetona, destilirane vode in očetne kisline v razmerju 70:28:2 (v/v/v). Vsebino smo premešali na vorteksu potem pa centrifugirke položili v ultrazvočno kopel za 10 minut. Sledilo je 10-minutno centrifugiranje na 4500 x g, nato pa smo 2 mL supernatanta prenesli v stekleno epruveto ter ga posušili v termobloku pri 60 °C s prepihanjem v inertni atmosferi (N₂). Suhemu preostanku smo dodali 2 ml 20 % metanola. Sledila sta stresanje na vorteksu in raztapljanje v ultrazvočni kopeli. Vzorce smo prefiltrirali skozi 0,20 µm celulozni membranski filter v HPLC viala.

Analiza je potekala z metodo tekočinske kromatografije, sklopljene z masnim detektorjem (LC-MS/MS). Uporabili smo kromatografski sistem ACQUITY UPLC H-Class PLUS System (Waters, ZDA). Na podlagi retencijskih časov standardov kofeina, teobromina in teofilina smo določili vsebnost posamezne spojine in rezultate podali kot povprečje dveh meritev.

Vsebnosti kofeina v analiziranih vzorcih kave so se gibale med 1,85 in 2,04 %, teobromina med 0,009 in 0,013 % in teofilina med 0,002 in 0,003 %. Razmerje med posameznimi metilksantini je pričakovano, saj je na splošno v kavi največ kofeina, najmanj pa teofilina. Prav tako so količine posamezne bioaktivne snovi primerljive s podatki iz literature.

V brezkofeinski kavi so se vsebnosti vseh analiziranih spojin zmanjšale, kar je pričakovano, saj postopek dekofeinacije vpliva, ne samo na kofein, ampak tudi na vsebnost ostalih metilksantinov. Vsebnost kofeina se je tako zmanjšala za 92 %, teobromina za 73 % in teofilina za 76 %.

Rezultati raziskave potrjujejo, da je kofein prevladujoči metilksantin v analiziranih vzorcih mlete pražene kave, medtem ko sta bila teobromin in teofilin prisotna v bistveno nižjih koncentracijah. Po podatkih EFSE je za zdrave odrasle varna količina zaužitega kofeina do 400 mg dnevno, pri čemer 60 mL espresso vsebuje približno 80 mg kofeina. Ker se vsebnost kofeina med različnimi kavami in načini priprave razlikuje, je pri ocenjevanju dnevnega vnosa pomembno upoštevati tudi vrsto in količino zaužite kave.

Ključne besede: kava, brezkofeinska kava, metilksantini, kofein.



Viri

- Jeszka-Skowron M., Frankowski R., Zgoła-Grześkowiak A. 2020. Comparison of methylxantines, trigonelline, nicotinic acid and nicotinamide contents in brews of green and processed Arabica and Robusta coffee beans – Influence of steaming, decaffeination and roasting processes on coffee beans. LWT, vol. 125, 109344, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109344>
- EFSA. 2015. Caffeine. European Food Safety Authority, <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/caffeine>



Vzorci privzema in kopičenja kovin v saprofitskih glivah

Luka Charapikj¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Študij biotehnologije, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

Onesnaženje okolja s kovinami predstavlja pomemben okoljski problem, saj se kovine v okolju ne razgrajujejo, lahko se kopičijo v organizmih in vstopajo v prehranske verige. Ena od potencialnih, okolju prijaznih rešitev je mikoremediacija, pri kateri se za odstranjevanje onesnažil uporabljajo glive.

Cilj raziskave je bil proučiti vzorce privzema in kopičenja svinca (Pb) in železa (Fe) pri treh vrstah užitnih gliv (*Pleurotus ostreatus*, *Hericium erinaceus* in *Laccaria laccata*) ter preveriti vpliv začetne koncentracije omenjenih kovin v rastnem substratu na njihovo akumulacijo. Imeli smo tri hipoteze:

Hipoteza 1: Glive selektivno privzemajo težke kovine, pri čemer se relativna akumulacija razlikuje glede na kemijske lastnosti posameznih kovin.

Hipoteza 2: Prisotnost določene kovine v substratu statistično značilno vpliva na privzem drugih kovin.

Hipoteza 3: Povečanje koncentracije kovin v substratu vodi v sorazmerno večjo akumulacijo v glivah, dokler ne doseže saturacijske meje, nad katero nadaljnje povečanje koncentracije v substratu ne vpliva več na privzem.

Glive smo gojili na krompirjevem dekstroznem agarju z dodatkom Pb, Fe ali obeh kovin v koncentracijah 25, 100 in 200 mg/L. Za vsako kombinacijo vrste glive, kovine in koncentracije smo pripravili tri tehnične ponovitve. Gojenje je potekalo 28, 35 oziroma 43 dni pri 25 °C in 85 % relativni zračni vlažnosti. Po končanem gojenju smo ločili aeralni micelij od substrata, vzorce posušili oziroma liofilizirali ter določili relativne koncentracije kovin v micelijih in substratih z rentgensko fluorescenčno spektrometrijo (XRF). Ker XRF analiza podaja koncentracije elementov v enotah ppm, rezultati predstavljajo relativne koncentracije kovin v analiziranih vzorcih. Podatki so zato bili primerni predvsem za primerjavo med posameznimi vzorci, medtem ko absolutnih količin prisotnih kovin ni bilo možno neposredno določiti.

Rezultati so pokazali bistvene razlike v sposobnosti privzema kovin med vrstami gliv. Pri *P. ostreatus* se je koncentracija Pb v miceliju praviloma povečevala z naraščanjem začetne koncentracije Pb in po 43 dneh, pri začetni koncentraciji v substratu 200 mg/L, dosegla 88 ppm v miceliju. Najizrazitejši privzem Fe pa je pokazala *L. laccata*, pri kateri se je koncentracija akumuliranega Fe v miceliju po 43 dneh povečala s 109 ppm pri 25 mg/L na 1202 ppm pri 200 mg/L začetne koncentracije v substratu. Pri tej vrsti smo tudi opazili padec koncentracije preostalega železa v substratu skozi čas pri vseh začetnih koncentracijah. Pri *H. erinaceus* je bil najbolj izrazit vpliv sočasne prisotnosti Pb in Fe. Pri 200 mg/L obeh kovin je po 43 dneh koncentracija Pb v miceliju dosegla 256 ppm, koncentracija Fe pa 607 ppm.

Zaradi metodoloških omejitev smo pri meritvah imeli več odstopanj. Kljub temu smo vse tri hipoteze delno potrdili. Glavni sklep raziskave je, da imajo preučevane glive potencial za selektiven privzem in kopičenje kovin iz onesnaženih okolij, zato predstavljajo zanimiv



biološki sistem za nadaljnje raziskave na področju mikoremediacije. Za nadaljnje raziskave bi bilo smiselno standardizirati način odstranjevanja micelija ter določiti suho in mokro maso vseh vzorcev. S tem bi lahko izračunali absolutne količine akumuliranih kovin in precej natančneje ocenili dejansko učinkovitost posamezne glive pri odstranjevanju kovin iz okolja.

Ključne besede: težke kovine, saprofitske glive, mikoremediacija, bioakumulacija kovin, XRF.



Lastnosti arheološkega lesa jelke s Čadrga

Ažbe Leskovic¹, Jure Žigon¹, Maks Merela¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, Rožna dolina, Cesta VIII/34, 1000 Ljubljana

Leta 2023 so med obnovo kalov v okviru projekta VrH v okolici vasi Čadrg pri Tolminu v Triglavskem narodnem parku odkopali hlode navadne bele jelke (*Abies alba* Mill.). Starost teh hloedov je bila z radiokarbonskim datiranjem določena na približno 6500 let. Ker so bili vsa ta leta zakopani v mulju, ki ustvari anaerobne pogoje, so bili hlodi razmeroma dobro ohranjeni. To je omogočilo izvedbo podrobnejših raziskav njihove anatomske zgradbe ter fizikalnih in mehanskih lastnosti. Namen raziskave je bil preučiti les jelke s Čadrga ter njegove lastnosti primerjati z lastnostmi recentne navadne bele jelke (TNP, 2018; TNP, 2023; Čufar in sod., 2025; Leskovic, 2026).

Raziskava je obsegala proučevanje mikroskopske zgradbe lesa, določanje gostote, sorpcijskih lastnosti, dimenzijske stabilnosti ter mehanskih lastnosti. Mikroskopska analiza je pokazala, da je osnovna anatomska zgradba lesa kljub njegovi veliki starosti ostala večinoma dobro ohranjena in minimalno spremenjena. Na vseh treh ksilotomskih prerezihi so bile jasno prepoznavne značilne anatomske strukture lesa navadne jelke. Lokalno, v manjših deležih, smo jasno opazili tudi delno degradacijo celičnih sten. Sama razgradnja lesa čadrške jelke sicer ni bila tako izrazita, kot je značilno za številne druge primere arheološkega lesa (Čufar in sod., 2025; Leskovic, 2026).

Primerjava fizikalnih lastnosti je pokazala, da ima les jelke s Čadrga nižjo gostoto kot recentni jelov les, kar je posledica delne degradacije celičnih sten. Kljub temu se sorpcijske lastnosti niso bistveno razlikovale od recentne jelke, dimenzijska stabilnost arheološkega lesa pa je bila celo nekoliko boljša. To pomeni, da se les čadrške jelke ob nihanju vlažnosti nekoliko manj krči in nabreka kot recentni les, kar odraža spremembe v zgradbi celičnih sten, ki pa niso bistveno vplivale na higroskopnost tega lesa (Leskovic, 2026).

Najizrazitejše razlike med proučevanima skupinama lesa so bile ugotovljene pri njunih mehanskih lastnostih. Les jelke s Čadrga je dosegal nižjo upogibno in tlačno trdnost ter nižji modul elastičnosti kot les recentne navadne jelke. Zmanjšanje mehanske odpornosti je povezano z nižjo gostoto in delno degradacijo celičnih sten pri lesu čadrške jelke (Leskovic, 2026).

Na podlagi rezultatov zaključujemo, da so anaerobni pogoji omogočili zelo dobro dolgoročno ohranitev anatomske zgradbe lesa čadrške jelke, so pa značilno poslabšali nekatere njegove mehanske lastnosti. Navkljub temu rezultati potrjujejo, da ima tudi več tisoč let star arheološki les uporabne tehnološke lastnosti, s čimer je primeren za uporabo v različnih lesenih izdelkih (Leskovic, 2026).

Les čadrške jelke tako ne predstavlja le izjemne slovenske naravne dediščine, temveč tudi edinstven vir informacij o preteklosti in dokaz, da se lahko naravni materiali ohranijo tudi po več tisočletjih. Les čadrške jelke je postal prava senzacija. Zadnje čase se vse več pojavlja v različnih medijih po celem svetu. Zaradi delne degradacije se stopnja ohranjenosti lesa med posameznimi kosi precej razlikuje. Medtem ko so nekateri deli močno degradirani, so drugi



ostali presenetljivo dobro ohranjeni. Ugotovljene so dobre akustične lastnosti tovrstnega arheološkega lesa, kar mu daje izjemen potencial za uporabo v lesenih glasbilih. Iz lesa čadrške jelke so tako do sedaj domači mojstri izdelali dve violini, kitaro, boben, več flavt in piščali ter vetrno harfo. Takšni izdelki pa imajo tudi izjemno dodano vrednost (Leskovic, 2026).

Ključne besede: čadrška jelka, arheološki les, slovenska naravna dediščina, degradacija lesa, anaerobni pogoji.

Viri

- Čufar K., Balzano A., Krapež D., Krže L., Velušček A., Merela M. 2025. Subfossil *Abies alba* stems from the 5th millennium BC. *Les/Wood*, 74, 2: 33–48. <https://doi.org/10.26614/les-wood.2025.v74n02a03>
- Leskovic A. 2026. Karakterizacija lesa jelke s Čadrga. Diplomsko delo. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 52 str.
- TNP. 2018. VrH Julijcev. Bled, Javni zavod Triglavski narodni park, <https://www.tnp.si/sl/javni-zavod/vec/projekti/vrh-julijcev/> (5. avgust 2026).
- TNP. 2023. Triglavski narodni park letos dobiva 17 obnovljenih kalov in označitev mirnih območij za obiskovalce. Bled, Javni zavod Triglavski narodni park, <https://www.tnp.si/sl/javni-zavod/medijsko-sredisce/novice/novica/42/triglavski-narodni-park-letos-dobiva-17-obnovljenih-kalov-in-oznacitev-mirnih-obmocij-za-obiskovalce.html> (15. januar 2026).



From plastics pollution to microplastics: preparing a fieldwork activity for outdoor teaching of primary and secondary school students

Ajda Ivezič¹, Nika Justin¹, Eva Šart¹, Anita Jemec Kokalj¹, Iztok Tomažič¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana

Humanity today faces a triple crisis driven by three main problems: climate change, pollution, and biodiversity loss. In recent years, it has been noted that the impacts of plastic pollution and climate change are closely linked (Schmidt in sod., 2024; Râpă in sod., 2025). Formal education is crucial in raising awareness and promoting action on various environmental issues. It is essential to equip students with knowledge and inform them about possible strategies that lead to environmentally friendly actions. The present qualitative study examines the possibilities for integrating the topics into school practice.

After reviewing the renewed Slovenian primary and secondary school science and biology curricula, we extracted and generalised the learning objectives directly linked to the topic and to sustainability. The purpose of the school system is also to teach students about the anthropogenic effects on nature (knowledge), develop positive attitudes toward nature (attitudes), and prepare them to actively contribute to solving global issues (behaviour). In primary school, students learn about the cell as the basic unit of life and become acquainted with microscopes and field equipment (Ministrstvo za vzgojo in izobraževanje in Zavod Republike Slovenije za šolstvo, 2025; Ministrstvo za vzgojo in izobraževanje, 2025). Later, the knowledge expands to include an understanding of planetary boundaries, the biosphere's carrying capacity, and the anthropogenic influence on the planet (Ministrstvo za vzgojo in izobraževanje, 2026).

The second stage included field sampling on two beaches in Lopar (Rab, Croatia). Site selection was based on expected differences in the amount of plastic and microplastic pollution relative to the level of tourist pressure. Rajska beach (44.8244343° N, 14.7415502° E) was chosen due to its heavy tourist impact and higher anthropogenic activity. In contrast, Zidine beach (44.8479134° N, 14.7198344° E) represents a location with significantly lower anthropogenic pressure, enabling a comparison of plastic and microplastic quantities between sites with differing human impact. The sampling results showed that approximately four times as much plastic and microplastic litter was collected at the more crowded site in a shorter sampling period (45 minutes) than at the less visited site, where sampling lasted 60 minutes.

Next, we prepared and evaluated two out-of-school activities with pre-service biology teachers. The first focuses on the diversity of microplastics. In the classroom, using tweezers, students separated microplastic particles from a container of sand and sorted them into Petri dishes based on selected categories (size, colour, material, etc.). The second activity focuses on distinguishing living from non-living matter, as organic material can sometimes resemble plastic, and vice versa. Using microscopes, students can assess differences.

In the final stage, we discussed the results with the students and gathered their feedback on the proposed activities, which served to prepare the final version for schools.



Integrating microplastic pollution into science curricula bridges global environmental challenges with classroom practice. By pairing theoretical learning objectives with hands-on field and lab activities, students experience human impact firsthand. Ultimately, these practical approaches raise awareness, foster positive environmental attitudes, and empower students to pursue sustainable solutions actively.

Keywords: microplastics, plastic pollution, coastal strip, school activities.

References

- Ministrstvo za vzgojo in izobraževanje. 2025. Učni načrt: Biologija: Osnovna šola. Ljubljana, Ministrstvo za vzgojo in izobraževanje. https://www.gov.si/assets/ministrstva/MVI/Dokumenti/Osnovna-sola/Ucni-nacrti/Ucni-nacrti/2025/UN_OS/Ucni_nacrt_biologija_2025.pdf
- Ministrstvo za vzgojo in izobraževanje. 2026. Učni načrt: Biologija: Gimnazija: Splošna, klasična, športna gimnazija ter dvojezična gimnazija. Ljubljana, Ministrstvo za vzgojo in izobraževanje. https://eportal.mss.edus.si/msswww/datoteke/ucni_nacrti/2026/un-dp-biologija_gim-si-is-dv.pdf
- Ministrstvo za vzgojo in izobraževanje in Zavod Republike Slovenije za šolstvo. 2025. Učni načrt: Naravoslovje. Ljubljana, Ministrstvo za vzgojo in izobraževanje in Zavod Republike Slovenije za šolstvo. https://www.gov.si/assets/ministrstva/MVI/Dokumenti/Osnovna-sola/Ucni-nacrti/Ucni-nacrti/2025/UN_OS/Ucni_nacrt_naravoslovje_2025.pdf
- Râpă M., Matei E., Cârstea E. M., Popa C. L., Matic M., Kosić D. 2025. Unraveling the plastic pollution in the aquatic environment of the Croatian Krk Island. *Water* 17, 6: 785, <https://doi.org/10.3390/w17060785>
- Schmidt C., Kühnel D., Materić D., Stubenrauch J., Schubert K., Luo A., Jahnke A. 2024. A multidisciplinary perspective on the role of plastic pollution in the triple planetary crisis. *Environment International*, 193: 109059, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.109059>



Kombinacija metod za celostno sanacijo kamnoloma pod Konjiško goro pri Slovenskih Konjicah

Julija Petrič¹

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za krajinsko arhitekturo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

Izkoriščanje mineralnih surovin pomembno posega v naravno zgradbo prostora, saj spreminja tla, vodni režim in vegetacijski pokrov ter vpliva na stabilnost, erozijsko odpornost in ekološke funkcije prostora (Sheng, 2024; Marušič, 2005). V prispevku je predstavljen načrt sanacije kamnoloma pod Konjiško goro pri Slovenskih Konjicah, ki ta cilj dosega s preoblikovanjem terena, biotehničnimi ukrepi, zasaditvijo ter uvedbo nove rabe prostora.

Izhodišča projekta temeljijo na ideji, da sanacija ni vračanje prostora v prvotno stanje, ampak preoblikovanje degradiranega prostora v nov, stabilen in funkcionalen krajinski sistem.

Izvedena je bila analiza obstoječega reliefa, ki je pokazala izrazito razgibanost terena in prisotnost zelo strmih pobočij, kjer neposredno ozelenjevanje ne bi bilo učinkovito. Zato je predvideno preoblikovanje terena z izkopi in nasutji ter oblikovanje novih teras, da se vzpostavijo stabilnejše površine z nakloni, primernejšimi za sanacijo in razvoj različnih oblik rabe prostora.

Na preoblikovanih površinah so bili glede na naklon, izpostavljenost in druge rastiščne značilnosti določeni ustrezni biotehnični ukrepi in načini zasaditve. Na najstrmejših pobočjih je zaradi otežene naravne ozelenitve predvidena hidrosetev oziroma setev z rastno pulpo v kombinaciji s protierozijskimi mrežami. Hidrosetev tako preprečuje spiranje in odnašanje materiala ter vzpostavlja protierozijsko zaščito (Steinman in sod., 2019).

Na položnejših pobočjih so predvidene žive ščetke, ki se uporabljajo predvsem za stabilizacijo brežin srednjih naklonov. Izvajajo se z vstavitvijo vej regenerativnih vrst v manjše jarke v pobočju za stabilizacijo in zmanjševanje površinske erozije (Škerjanec, 2025).

Na primernejših odprtih površinah je predvidena vzpostavitev cvetočega travnika z mešanico trav in cvetočih zeli, prilagojenih lokalnim talnim in rastiščnim razmeram (Konc in sod., 2024). Vrstno bogata travišča imajo pomembno ekološko funkcijo, saj predstavljajo življenjski prostor številnim rastlinskim in živalskim vrstam ter prispevajo k ohranjanju biotske raznovrstnosti. Cvetoči travnik v zasnovi hkrati predstavlja pomemben odprti krajinski prostor in prispeva k vizualni ter doživljajski kakovosti območja.

Pomemben del sanacije predstavlja upravljanje padavinske vode. V reliefni depresiji je zato umeščen suhi zadrževalnik, ki omogoča začasno zadrževanje padavinske vode in posledično zmanjšuje obremenitev nižje ležečih površin. Ukrep predstavlja del celovitega sistema upravljanja voda v saniranem območju.

Vegetacijska zasnova je prilagojena različnim prostorskim in rastiščnim razmeram. Temelji na uporabi pionirskih in avtohtonih vrst ter na oblikovanju različnih sadilnih vzorcev, s katerimi se postopno vzpostavljajo vegetacijske strukture na terasah, odprtih površinah in območjih gozdnega roba. Takšna zasnova ne poskuša vzpostaviti enotne vegetacijske podobe, temveč omogoča razvoj prostorsko raznolikega krajinskega vzorca, ki se skozi čas spreminja in razvija.



Sanacija območja je nadgrajena z uvedbo nove rabe prostora. Skozi območje je predvidena rekreacijska pot, s počivališči s klopmi, kavarno in servisnim objektom. Nova povezava omogoča dostopnost območja in vključevanje v širši sistem rekreacijskih površin, spremljajoči programi pa ustvarjajo pogoje za daljše zadrževanje uporabnikov. Tako sanacija presega zgolj tehnično in ekološko obnovo ter degradiran prostor ponovno vzpostavlja kot del javnega krajinskega prostora.

Pomembna ugotovitev prispevka je, da sanacije kamnoloma ni možno učinkovito zasnovati z enotnim ukrepom, temveč zahteva kombinacijo različnih pristopov glede na reliefne in rastiščne razmere. Predlagana zasnova povezuje stabilizacijo terena, razvoj vegetacije, upravljanje vode in človekovo rabo ter kamnolom preoblikuje v nov krajinski prostor z ekološkimi in družbenimi funkcijami.

Ključne besede: sanacija kamnoloma, preoblikovanje terena, obnova vegetacije, biotehnični ukrepi, hidrosetev, žive ščetke, suhi zadrževalnik.

Viri

Konc K., Špilak I., Šumrada T. 2024. Pregled sistemskih ukrepov in praks v podporo obnovi travnišč v Evropi in Sloveniji. Projekt LIFE FOR SEEDS (LIFE20 NAT/SI/000253). Ljubljana, Univerza v Ljubljani Biotehniška fakulteta, https://lifeforseeds.si/wp-content/uploads/2025/06/Pregled-sistemskih-ukrepov-in-praks-za-obnove_Life-for-seeds_BF-porocilo_final.pdf (14. avgust 2026).

Marušič I. 2005. Pravila za vzdržno urejanje posegov v relief. Raziskovalno-razvojni projekt Ciljnega raziskovalnega programa "Konkurenčnost Slovenije 2001–2006". Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za krajinsko arhitekturo, https://www.krajinskapolitika.si/wp-content/uploads/2018/10/Pravila_posegi_v_relief_Marusic_2005.pdf

Sheng X. 2024. A Study on vegetation restoration and ecological rehabilitation of mine slopes based on bioengineering technology. Mathematical Modeling and Algorithm Application, 3, 1: 32–37, <https://doi.org/10.54097/g4at5z48>

Steinman, F., Papež, J., Rak, G., Škerjanec, M. 2019. Inženirska biologija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za gradbeništvo in geodezijo.

Škerjanec M. 2025. Tehnični in biotehnični ukrepi: učno gradivo za predmet "Inženirska biologija". Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za krajinsko arhitekturo (neobjavljeno).



Reintegrating the Costa-Couros river into the urban fabric of Guimarães - LE:NOTRE 2026 “SEGUNDA VIDA”

Zhang Bochen¹, Mirta Dolinšek², Vasilija Petrović², Marko Verbič², Nan Wu³

¹Xi'an University of Architecture and Technology, College of Architecture, Department of Landscape Architecture, No. 13, Middle Section of Yanta Road, Beilin District, Xi'an, Shaanxi 710055, China

²Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za krajinsko arhitekturo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

³Xi'an University of Architecture and Technology, College of Art, Department of Design, No. 13, Middle Section of Yanta Road, Beilin District, Xi'an, Shaanxi 710055, China

Urban waterways have historically been among the key elements shaping the spatial development of cities. However, as a result of industrialisation and urbanisation, they have often been channelled and covered, excluding them from residents' everyday lives. Such interventions have caused not only environmental changes, but also the loss of spatial identity, reduced ecological connectivity, and a decline in the quality of public space. The search for landscape architectural approaches that enable the reintegration of waterways into the urban fabric has therefore become an increasingly important aspect of sustainable urban planning.

This contribution presents the project “SEGUNDA VIDA”, developed as part of the international student competition LE:NOTRE 2026 within the Master's programme in Landscape Architecture at the Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, under the mentorship of Assist. Prof. Darja Matjašec and Assist. Prof. Nejc Florjanc. The project was developed in response to the competition brief for the regeneration of the Bairro C area in the Portuguese city of Guimarães, whose identity was shaped for centuries by the Costa-Couros river. Due to the development of the leather industry, the river was gradually channelled and covered, resulting in the loss of its spatial, ecological, and social role within the city. The central objective of the project was to use landscape architectural approaches to re-establish the Costa-Couros river as a structuring element of the urban fabric and restore its spatial, ecological, and social role in the city. Our proposal was selected as a finalist in the international competition.

The research and design process was based on an analysis of the area's historical development, spatial structure, water system, blue-green infrastructure, and industrial heritage. The findings were synthesised into a conceptual framework supported by thematic mapping and the development of spatial scenarios, which informed the formulation of an integrated landscape architectural strategy for regenerating the area. The strategy is based on reintegrating the river into the urban fabric as a central natural, spatial, and social element.

The proposed solution is based on daylighting the river at three selected locations, where its re-emergence enables new spatial, ecological, and social connections. These locations mark key points where the watercourse is brought back to the surface and reintegrated into the city's everyday life. The first location emphasises the establishment of an ecological corridor and a water-retention area during periods of high rainfall; the second improves microclimatic conditions and enables direct interaction between residents and water; while the third involves the comprehensive transformation of a degraded industrial area. Abandoned industrial buildings are repurposed for new uses, including greenhouses, creative workshops, and multifunctional community spaces, while preserving the memory of the area's industrial past.



A key component of the proposed strategy is involving the local community in the planning process and the subsequent management of the space. In this way, the project goes beyond physical regeneration and addresses the area's long-term social sustainability and the strengthening of local identity. The proposed interventions combine natural processes, cultural heritage, and contemporary needs, creating multifunctional public spaces that encourage social interaction, recreation, education, and adaptation to climate change.

Keywords: landscape architecture, urban regeneration, revitalization of river, industrial heritage, climate adaptation, Guimarães.



Oblikovanje polja za raztros na pokopališču Bitnje

Rina Hojnik¹, Polona Lovšin¹, Lea Morano¹, Kaja Pelko Pleteršek¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za krajinsko arhitekturo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za arhitekturo v sodelovanju z Oddelkom za krajinsko arhitekturo Biotehniške fakultete je po naročilu mestne občine Kranj izvedla anonimni študentski natečaj Oblikovanje polja za raztros na pokopališču Bitnje. Natečajna naloga je predvidevala oblikovanje prostora za izvajanje obreda raztrosa, prostora za žalovanje, obeležja z imeni pokojnih ter spremljajočih elementov ob upoštevanju dostopnosti in značilnosti obstoječega okolja.

V sodobni družbi se pogrebne prakse postopoma spreminjajo, kar se odraža v vse pogostejši izbiri upepelitve in raztrosa pepela. Takšne spremembe odpirajo nova vprašanja o oblikovanju pokopališč. Ta danes niso razumljena zgolj kot prostori pokopa, temveč tudi kot prostori spomina in umika. Sodobna pokopališča vse bolj povzemajo vlogo javnih krajin, pri čemer je njihova bistvena vrednost ustvarjanje atmosfere, ki omogoča umirjeno doživljanje, kontemplacijo in izražanje pietete do pokojnih. Oblikovanje takšnega prostora zahteva celosten pristop, ki združuje funkcionalne, estetske in simbolne vidike. Ključnega pomena je skladnost nove ureditve s prostorskim in kulturno-zgodovinskim kontekstom območja ter ohranjanje tistih značilnosti prostora, ki soustvarjajo njegov *genius loci*.

Oblikovalski proces je temeljil na pregledu natečajne dokumentacije, terenskem ogledu in analizi prostorskih podatkov. Obravnavane so bile značilnosti obstoječega pokopališča, prostorski odnosi z okoliško kulturno krajino, relief, vegetacija, pomen vedut ter kulturno-zgodovinske prvine prostora. Posebna pozornost je bila namenjena značilnemu ritmu podolgovatih njivskih struktur ter veduti proti cerkvi svete Uršule in Škofjeloškemu hribovju v ozadju. Na podlagi analiz je bilo oblikovanih več konceptualnih izhodišč, katerih sinteza je vodila do končnega predloga prostorske zasnove.

Končni predlog prostorske zasnove temelji na oblikovanju zaporedja prostorov, ki postopoma vodijo od pokopališča do intimnega prostora. V središču zasnove je prostor za žalujoče, zasnovan kot rahlo dvignjena podolgovata ploščad. Dostopna je po klančini, ki skupaj z blagim višinskim preходом loči prostor za žalovanje od drugih delov pokopališča. Ločnica je podprta s skrbno načrtovanimi plastmi vegetacije. Ob vzponu obiskovalec prečka linijo belih topolov (*Populus alba*) in linijo polstene smiljke (*Cerastium tomentosum*), ki simbolno označujeta prehod v prostor grobnega polja. Ploščad na eni strani omejuje vzdolžno sedišče, na drugi pa nizko spominsko obeležje zaključeno s površino za odlaganje cvetja. Prekinitev v obeležju tvori prehod proti raztrosnemu polju in simbolno označuje prehod iz prostora za žalovanje v obredni prostor raztrosa. Za obeležjem se odpira pogled na polja, cerkev svete Uršule in Škofjeloško hribovje, ki ohranjajo identiteto prostora. Pomemben element zasnove predstavlja travnata površina z različnimi režimi košnje, ki povzema značilno strukturo okoliških polj ter vzpostavlja prostorsko kontinuiteto s kulturno krajino. Njeno središče tvori raztrosno polje v obliki rahlo izbočene elipse, katere obod opredeljuje diskreten robnik. Ta jasno razmejuje območje raztrosa od krožne ceremonialne poti ter hkrati omogoča natančno vzdrževanje travnate površine.

Končni predlog zasnove s subtilnimi posegi ohranja tiste krajinske značilnosti in prostorske odnose, ki soustvarjajo *genius loci* območja ter oblikuje umirjen in dostojanstven prostor



slovesa. Povezuje funkcionalne, estetske in simbolne vidike ter poudarja pomen krajinsko arhitekturnega pristopa pri oblikovanju sodobnih prostorov spomina in slovesa.

Ključne besede: študentski natečaj, pokopališče, Bitnje, raztros pepela.

Viri

Foucault M. 1986. Of other spaces. *Diacritics*, 16, 1: 22–27, <https://doi.org/10.2307/464648>

Lyndon D. 2009. The place of memory. V: *Spatial recall: memory in architecture and landscape*. Trieb M. (ur.). New York, Routledge: 62–85.

Latini L. 2009. The Mediterranean cemetery: landscape as a collective memory. V: *Spatial recall: memory in architecture and landscape*. Trieb M. (ur.). New York, Routledge: 154–175.

Pallasmaa J. 2009. Space, place, memory and imagination: the temporal dimension of existential space. V: *Spatial recall: memory in architecture and landscape*. Trieb M. (ur.). New York, Routledge: 16–41.

Worpole K. 2003. *Last landscapes: The architecture of the cemetery in the West*. London, Reaktion Books.



SimBiozij 2026 so omogočili:



— 1867 —

YPSILON

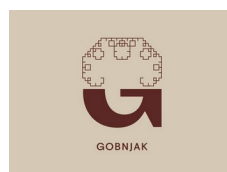


Monitor



FITNESSCLUB

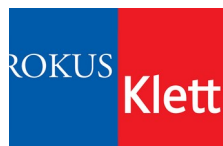
STEGNE



Mestna občina
Ljubljana



UNIVERZA
V LJUBLJANI



KRKA



BF

Biotehniška
fakulteta



ŠTUDENTSKI SVET
Biotehniške fakultete