

Biological control manufacturers in Europe develop novel biological control products to support the implementation of Integrated Pest Management in agriculture and forestry

Principal investigator: Željko Tomanović, professor Faculty of Biology, University of Belgrade

Funded by: FP7, BIOCOMES, Grant agreement number 612713 (2014-2017)

Participants: Željko Tomanović, professor, Andjeljko Petrović, Assistant professor, Marina Janković, assistant, Milan Plećaš, assistant, Jelisaveta Čkrkić, PhD student, Andjeljka Popović, PhD student, Korana Kocić, PhD student

The objective of BIOCOMES is to develop 11 new biological control agents (BCAs) for key markets in European agriculture and forestry. BCAs were identified through market analysis by six manufactures of biological control products. BCAs will primarily be for use in open field crops of vegetables (3), of which 2 are also for use in protected crops, arable crops (3), fruit crops (3), and three different types of forests (2). Primary targeted pests are: gypsy moth (*Lymantria dispar*), pine weevil (*Hylobius abietis*), tomato pinworm (*Tuta absoluta*), white flies, aphids of fruit tree crops and *Mamestra brassicae*. Primary targeted pathogens are: damping-off diseases in forest nurseries, soilborne pathogens of oilseed rape and cereals, brown rot (*Monilinia* spp.) of stone fruit, and powdery mildew of cereals (*Blumeria graminis*). The economic sustainability during the entire development process will be assessed by the responsible industrial partners. The environmental sustainability will be quantified for each BCA by means of the Sustainable Process Index method. The entire developmental process for each of the 11 BCA products is guided by a consultancy partner specialized and leading in (bio) pesticide registration including risk assessments for European (bio) pesticide industries. In vitro production of entomopathogenic viruses as new innovative technique like will be developed aimed at a breakthrough in economic production. Downstream-technology and shelf life for entomopathogenic nematodes will be improved. BIOCOMES will communicate project results with all stakeholders with special attention to European IPM networks throughout the whole project duration. BIOCOMES combines the expertise of 10 industrial SME partners, 3 larger industrial partners and 14 research partners with 38% of the requested EU contribution supporting SMEs. All 11 BCA solutions will be novel IPM tools and new alternatives to replace major pesticide applications in European agriculture and forestry.

Bioinformatics and modeling of bacterial immune systems - understanding control of CRISPR/Cas

Principal Investigator: Marko Đorđević, Assistant professor, Faculty of Biology, University of Belgrade

Funded by: Swiss National Science Foundation, SCOPES project (2014-2017)

Participants: Marko Đorđević, Assistant professor, Faculty of Biology, University of Belgrade; Jelena Guzina, Research Assistant, Faculty of Biology, University of Belgrade; Andjela Rodić, Research Trainee, Faculty of Biology, University of Belgrade.

CRISPR/Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR associated sequences) is a recently discovered prokaryotic immune system. CRISPR array encodes for small interfering RNA molecules (called crRNAs), so that a match between crRNA and invading virus sequence provides immunity to infection. While there has been a significant progress in CRISPR/Cas research, it is still unclear how processes such as CRISPR transcript processing, prevention of autoimmunity, and the system induction upon virus infection are controlled. In particular, it is becoming increasingly clear that small RNAs that are encoded outside of CRISPR array have major regulatory roles in CRISPR/Cas, but a systematic identification and characterization of these CRISPR/Cas associated small RNAs has yet to be done. However, a major problem in comprehensive analysis of these small RNAs is insufficient accuracy with which transcription start sites (TSS) can be predicted. Another prominent problem for CRISPR/Cas systems is regulation of its induction, i.e. how a large number of crRNAs can be rapidly generated without leading to autoimmunity.

Main goal of this proposal is to better understand control of CRISPR/Cas by small RNAs and during system induction; to achieve this goal, we will also extend our previous work on accurate alignments of bacterial promoter elements, and on biophysical modeling of transcription initiation by bacterial RNA polymerase (RNAP), in order to significantly improve accuracy of TSS prediction. Specifically we will: *i*) Develop a novel - biophysically based - method for TSS detection in bacteria, which builds on our recent work on modeling how RNAP opens the two DNA strands and on accurately characterizing DNA sequences that interact with RNAP; the method will be based on explicitly estimating the rate of transcription initiation for any sequence of interest, *ii*) Systematically predict small RNAs that are related with CRISPR/Cas, analyze their conservation in bacterial genomes, and compare them with other elements of CRISPR/Cas systems, *iii*) Model regulation of CRISPR/Cas induction in *E. coli*, in order to understand how they achieve a rapid enough response to external signal. We expect that this research will significantly improve our understanding of CRISPR/Cas systems, and further improve bioinformatic methods, which are necessary for analyzing bacterial genome sequences.

Bioinformatic analysis of transcription regulation: a modeling approach

Principal Investigator: Marko Dorđević, Assistant professor, Faculty of Biology, University of Belgrade

Funded by: FP7 Marie Curie International Reintegration Grant, (2011-2014)

Participants from Faculty of Biology, University of Belgrade: Marko Dorđević, Assistant professor

Transcription is both the first step and a major regulatory checkpoint in gene expression. Transcription start sites are locations in genome where RNA polymerase initiates transcription, while transcription binding sites are locations where transcription factors bind to regulate transcription. Knowledge of both transcription start sites, and transcription factor binding sites, is crucial for understanding transcription. However, methods for bioinformatic detection of these sites, which are mainly based on information theory, are typically characterized by low accuracy. Major underlying problems are: i) transcription initiation is a complex process that is characterized by both binding of RNA polymerase and opening of two DNA strands, ii) transcription factor binding sites usually have to be discovered/aligned within longer DNA fragments, which is often technically demanding and unreliable, iii) discovery of direct target genes of a transcription factor is complicated by random occurrence of binding sites that have high binding energy, but are not functional in regulating transcription.

The main goal of our proposal is to develop bioinformatic methods for accurate detection of transcription signals. To address the above problems, we will use biophysical modeling to i) Develop a novel method for transcription start site detection in bacteria, which is based on explicit calculation of transcription initiation rates and takes into account both RNA polymerase binding and opening of two DNA strands, ii) Develop a method for inferring transcription factor-DNA interaction parameters directly from DNA fragments selected through high-throughput in-vitro selection experiments, iii) Develop a method for detection of target genes of a transcription factor, which detects an overrepresentation of binding energy distribution upstream of genes. We expect that these methods will significantly improve accuracy of analyzing transcription regulation.

Evolution, biodiversity and conservation of indigenous plant species of the Balkan Peninsula

Principal investigator: Dmtar Lakušić, professor Faculty of Biology, University of Belgrade

Funded by: FP7, SEE-ERA.NET Plus Joint Call 049 (2010-2012)

Participants from Faculty of Biology, University of Belgrade: Maja Lazarević, Assistant professor, Nevena Kuzmanović, Research Assistant

The Balkan flora is not only the richest in Europe but comprises also many endemics. Preservation of indigenous species and their habitats is therefore not only of national, but also of international importance. While species richness is still the most widely used measure for biodiversity assessments, recent molecular studies have shown that much of the “hidden”, intraspecific diversity is neither adequately reflected in taxonomy nor used in nature conservation. Another source of biodiversity is polyploidy (multiplication of chromosome sets), which was not only involved in the origin of most crop plants but is also considered one important mechanism allowing sympatric speciation. Ploidy level differences are not restricted to the species level, but also occur frequently within species. Polyploids have been shown to originate recurrently and to be successfully maintained, emphasising their evolutionary significance. Applying a wide array of molecular techniques in combination with flow-cytometry, we aim to unravel the spatiotemporal evolution of three polyploid plant groups scattered throughout the tree-of-life in order to uncover general mechanisms that contributed to the high levels of biodiversity of the Western Balkan countries. Among the taxa proposed to be investigated is the Balkan endemic *Cerastium dinaricum*, a Natura 2000 species, and thus a priority species for EU-wide conservation efforts. Our team comprises scientists from the Universities of Innsbruck (Austria), Beograd (Serbia) and Zagreb (Croatia). While the Austrian partners have a long-term experience in the application of molecular techniques to unravel intraspecific biodiversity and polyploid complexes, the Croatian and Serbian partners have only recently set up molecular laboratories or are currently on the way to do so. Consequently, they would greatly profit from the transfer of know-how with respect to molecular techniques, advanced data analyses and effective publication strategies.

Host specialization of aphid parasitoids

Principal Investigator: Željko Tomanović, professor, Faculty of Biology, University of Belgrade

Funded by: Swiss National Science Foundation, SCOPES, Number IZ73Z0_1 28174 (2010-2013)

Participants from Faculty of Biology, University of Belgrade: Željko Tomanović, professor, Andjeljko Petrović, Assistant professor, Marina Janković, Assistant, Jelisaveta Črkić, Research Assistant, Andjeljka Popović, Research Assistant, Milan Plećaš, Assistant

Parasitoids of insects represent a substantial fraction of arthropod biodiversity. Their enormous diversity may reflect the fact that development inside a living host requires many particular adaptations, which in turn may lead to strong selection for host specialization. Indeed, despite ample variation in parasitoid host ranges, the number of hosts attacked by parasitoids is often a very restricted subset of apparently similar hosts. Furthermore, the advent of highly resolving molecular markers has shown that some cases of seemingly generalist parasitoids in fact represent species groups of morphologically cryptic, host-specialized taxa. Because many parasitoids are important natural enemies of pest insects, the resolution of such cases is of great agricultural importance. This is particularly true for aphid parasitoids of the subfamily Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae), which are very valuable for biocontrol of pest aphids in green houses as well as open crop fields. Despite their economical importance, knowledge about host specialization within morphologically distinguishable taxa is surprisingly scarce. We, a team of Swiss and Serbian scientists aided by an expert from the Czech Republic, propose to address this issue in three different species or species groups. All of these are natural enemies of pest aphids, and each group offers a particular opportunity to yield insights into general questions on the evolution of host specialization in parasitoids: Sub-project A looks at host specialization in three closely aphid parasitoids of the genus *Lysiphlebus*: *L. fabarum*, *L. cardui* and *L. confusus*. In each of these species, sexual and asexual populations can be found, which is highly unusual among aphid parasitoids. It is currently unclear how this variation in the reproductive mode affects the evolution of host specialization, but preliminary data suggest some differences in host associations among sexual and asexual populations. It is also unclear whether asexual populations, which exhibit comparatively broad host ranges, may in fact consist of many divergent asexual lineages with narrower host ranges. We will address these questions using a combination of comprehensive field sampling, genetic analyses with nuclear (microsatellites) and mitochondrial (COI) genetic markers, and host transplant experiments.

Sub-project B is concerned with *Lysiphlebus testaceipes*, a North American parasitoid that was introduced into the Mediterranean as a biocontrol agent of citrus aphids. Since its introduction in the 1970s, *L. testaceipes* has spread rapidly and acquired many new hosts from the native Mediterranean aphid fauna. It is unclear whether this reflects extreme generalism or whether *L. testaceipes* consists of multiple, host-associated lineages. Using microsatellites and mitochondrial DNA sequences as well as modern morphometric approaches, we will test for differentiation among wasps associated with different hosts. If we detect a genetic signature of host specialization, it will be interesting to assess whether specialized lineages were already introduced from America, or whether *L. testaceipes* evolved host specialization in situ during the short period since its introduction. This will be possible by also studying samples from its native range.

Sub-project C addresses host specialization in the morphologically cryptic *Praon dorsaleyomenae* species complex. This group is suspected to be paraphyletic, consisting of several hidden taxa with specific host adaptations and distributions.

However, a systematic approach to resolve this issue has so far been lacking. Our project will attempt to delineate species boundaries and elucidate patterns of host specialization in this complex.

Landscape and regional context of insect agrobiodiversity in Southeastern Europe: a pilot survey of selected hemipteran pests, their parasitoids and predators, and bee pollinator diversity.

Principal investigator: Željko Tomanović, professor Faculty of Biology, University of Belgrade

Funded by: FP6, SEE-ERA.NET, number 9608 (2007-2008)

Participants from Faculty of Biology, University of Belgrade: Željko Tomanović, professor

Biodiversity loss in agricultural landscapes affects a range of ecological services that support food production, water supplies, habitats for wild species, and human health. Research is needed to show how the utilization and conservation of biodiversity can provide ecosystem services to satisfy both current and future needs. With this project proposal we wish to address one of the key research foci in Agrobiodiversity Science Plan (Diversitas, 2005), the assessment of biodiversity in agricultural landscapes and the anthropogenic drivers of biodiversity change. In the context of Southeastern Europe, it is essential to develop and introduce the new approaches, methods, and models for assessing and monitoring biodiversity in agricultural landscapes, and for determining issues that affect the sustainable use and conservation of biodiversity in agriculture. These goals are closely tied with the establishment of international networks that could promote research and capacity building among researchers involved in biodiversity science in agriculture.

In recent years, it is recognised that species abundance, community structure and ecosystem interactions are linked to broader landscape context and that structurally complex landscapes enhance local diversity of the "beneficial" insects, as well as the essential processes like natural control of pests, crop pollination, resilience to biological invasions, etc. This PILOT SURVEY should contribute to the assessment of the landscape scale impacts of diverse agricultural practices and the habitat fragmentation and degradation on agrobiodiversity associated with the selected of crop systems (selected herbivorous hemipterans, their parasitoids, SEE-ERA.NET Pilot Joint Call Page 2 Ref. Nr 06-1000031-9608 predators and pollinator guilds in wheat- and corn-growing regions). Also, selected invasive hemipteran species will be monitored and their vector role will be evaluated. Principal goals of the proposed project are to establish the general scientific (conceptual, methodological, etc.) framework and to gain the necessary experience, skills and baseline information from the field, that should enable us to develop a feasible comprehensive large-scale further research programme in the area. The program will cover the following topics: diversity of cereal aphids and their natural enemies, pollinator bee diversity and abundance in agricultural landscapes, diversity and vector status of Auchenorrhyncha in corn fields, and establishment of detecting and monitoring systems for invasive hemipteran species.

Our proposal fits into the priority topic: Food, Agriculture and Biotechnology: Sustainable Production and Management of Biological Resources from Land, Forest and Aquatic Environments. It is also compatible with several recent EU projects on agrobiodiversity (i.e. FP5 "Evaluating current European Agrienvironment

Schemes to quantify and improve nature conservation efforts in agricultural landscapes" and FP6 "Assessing Large-scale environmental Risks with tested Methods").

Development of a non-toxic, ecologically compatible, natural-resource based insecticide from diatomaceous earth deposits of South Eastern Europe to control stored-product insect pests

Principal investigator: Željko Tomanović, professor Faculty of Biology, University of Belgrade

Funded by: FP6, SEE-ERA.NET, number 9902 (2007-2008)

Participants from Faculty of Biology, University of Belgrade: Željko Tomanović, professor

Stored products, particularly grains and related amylaceous products, are seriously damaged by pests, which can cause serious quantitative losses and qualitative degradations. For their control, two main categories of pesticides are used: residual insecticides and fumigants. However, their use in stored food is now reconsidered due to the fact that many of these substances are extremely toxic to mammals and leave dangerous residues on the food. In addition, it is now well established that many substances are very toxic for the environment, such as methyl bromide. One of the most promising alternatives to traditional pesticides is the use of diatomaceous earths (DEs) which are the fossils of diatoms. DEs, which contain chiefly SiO₂, act on the insects' exoskeleton causing death through water loss (desiccation); hence, they have a physical mode of action. Also, DEs are non toxic to mammals, and they are widely used in food industry for many uses, including their use as food or feed additives. So far, several DE formulations are registered for pest control in stored products and facilities. However, the currently used formulations have high application rates, which can affect some of the physical properties of the products on which the DEs are applied. Since newer and undiscovered DEs exist in many parts of the world, the occurrence of DEs that are effective at lower dose rates is very likely.

Previous geological studies from the area of South Eastern Europe, especially from some parts of Former Yugoslavia, indicate clearly that these regions are extremely rich to DEs. However, there is still inadequate information about the insecticidal value of these deposits. In the proposed research project, five laboratories (Greece, Serbia, Croatia, Slovenia and Germany) with extensive experience in the use of biopesticides and natural resources for stored-product pest control, is planned to conduct specific series of tests to evaluate the insecticidal values of local DEs. The series of experiments are related with the assessment of specific physical and chemical characteristics of the given DEs.

Also, during the proposed project bioassays will be carried out, against the major stored product insect species, in order to assess the insecticidal value of DEs. In this way, the DE sample(s) with the desired characteristics (highly effective at low doses, desired chemical properties) will be processed for further research, and potential industrial use. Moreover, the proposed experimental protocol and the results will be published to an International Journal, by establishing a standardised testing protocol for the evaluation of DEs which could be adopted by other researchers as well. Our pilot study consists the first screening of DEs as insecticides from the specific area. Apart from the discovery of new DEs, these data will simulate additional proposals and research on the local DEs, and also encourage farmers and industry for further development.

БИЛАТЕРАЛНИ ПРОЈЕКТИ

Примена матичних ћелија у експерименталној терапији амиотрофичне латералне склерозе

Руководилац: Павле Анђус, редовни професор, Биолошки факултет – Универзитет у Београду

Програм билатералне сарадње између Републике Србије и Републике Хрватске
Трајање: 2016-2017

Учесници, Универзитет у Београду - Биолошки факултет: Милена Милошевић, асистент, Стефан Стаменковић, истраживач сарадник

Циљ пројекта је проучавање матичних ћелија у експерименталној терапији разорне и парализујуће неуродегенеративне болести амиотрофичне латералне склерозе (АЛС), која узрокује смрт за 24 године након појаве симптома. У том смислу користиће се ћелије букалне мукозе (ОМС), матичне ћелије из апикалне пулпе (SCAP), као и нервне матичне ћелије (NSC) које ће се користити као а) флуоресцентно обележене за *in vitro* испитивања у кокултурама АЛС неурона и/или астроцита и б) обележене парамагнетним наночестицама за *in vivo* поставке након примене интравенозно или интратекално у анимални модел (hSOD1 G93A АЛС пацов). Циљ је дакле, да се прати утицај матичних ћелија на цитолошке (имунофлуоресценцијом на конфокалном микроскопу) и физиолошке (динамика јонске промене путем флуоресцентне видеомикроскопије са временском резолуцијом) параметре у кокултури са неуронима и глијом, као и судбина (путем MRI) инјектованих обележених матичних ћелија у мозговима АЛС животиња. Планирано је да се рад на пројекту базира на комплементарним експертизама и размени знања два партнера. Наиме, стручност српског партнера (истраживачких група из Центра за ласерску микроскопију ЦЛМ, Биолошког факултета и Стоматолошког факултета, оба са Универзитет у Београду) биће у служби узгоја и одржавања животињског модела, изолације и културе матичних ћелија (ОМС и SCAP) као и неурона и глије, имуноцитохемије, конфокалне микроскопије и видеомикроскопије са временском резолуцијом, док ће се хрватска група (Хрватски институт за истраживање мозга - ХИИМ, Загреб) бавити MRI мерењима, хистологијом и морфологијом, изолацијом и културама неуронских матичних ћелија, као и њиховим обележавањем наночестицама.

***Arbutus unedo* L.- природни приступ у контроли инфекције мокраћних путева**

Руководилац: Славиша Станковић, ванредни професор, Биолошки факултет – Универзитет у Београду

**Програм билатералне сарадње између Републике Србије и Републике Хрватске
Трајање: 2016-2017**

Учесници, Универзитет у Београду - Биолошки факултет: Јелена Лозо, ванредни професор, Тања Берић, ванредни професор, Ивица Димкић, научни сарадник

Уропатогени микроорганизми су у стању да адхерирају, расту и одупру се имунском систему домаћина, што на крају може довести до колонизације и инфекције уринарног тракта (ИУТ). ИУТ су међу најчешћим људским бактеријским инфекцијама и често се третирају антимикуробним средствима. Одговарајућа антибиотска терапија ће излечити многе случајеве, међутим болест се поново појављује код око 25% оболелих. Коришћење биљних екстраката са антибактеријским својствима може бити од велике важности у контроли ИУТ, јер не доводе до појаве резистентних сојева, а имају повољан учинак на исход инфекције. Једна од биљака која има потенцијал за употребу у превенцији и помоћи у лечењу ИУТ је *Arbutus unedo* L., врста планике (магиње), широко заступљене у медитеранским климатским подручјима јужне Европе. Биљка расте као зимзелени жбун или у виду малог широког дрвета са сивосмеђом кором. Јестиви плодови се сакупљају од октобра до децембра, а такође се могу користити и за справљање слатке зимнице или могу обезбеђивати полен за настанак карактеристичног меда. У традиционалној народној медицини *A. unedo* се често користи као антисептик, диуретик и лаксатив. За листове ове биљке је до сада доказано да поседују неколико биолошких својстава попут антиинфламаторног, антидијаретичког, антихипертензивног и антидијабетичког. Садржи супстанцу арбутин (познати антисептик увиног чаја), који се у урину преводи у хидрохинон, биолошки активни молекул са антисептичким деловањем на уринарни тракт.

Улога катепсина X (икс) и С и ендогеног инхибитора цистатина Ц код болесника са хроничном срчаном исуфицијенцијом

Руководилац: Биљана Божић, ванредни професор, Биолошки факултет – Универзитет у Београду

**Програм билатералне сарадње између Републике Србије и Републике Словеније
Трајање: 2016-2017**

Учесници, Универзитет у Београду - Биолошки факултет: Драгана Змијањац, докторанд

Срчана слабост (енгл. Heart failure, HF) проузрокована је не само срчаним слабљењем или повредама већ такође и комплексним интеракцијама између генетских, неурохормоналних, инфламаторних и биохемијских промена. Прогноза срчане слабости је веома лоша. Средње четворогодишње преживљавање је само око 50% а код пацијената са узнапредовалом HF једночодишње преживљавање је и мање од 50%. Ова прогноза је слична или чак лошија од оне код узнапредовалих канцера. Одржавање здравог срчаног система се ослања на контролу биосинтезе, сазревања, функције и разградње протеин екстрацелуларног матрикса. Матриксне металопроотеиназе и серине протеасе учествују у прекиду регулације протеолитичких ензима који може да омета нормалне биолошке процесе у срцу и узрокује кардиоваскуларне болести. Цистеин катепсини (Цат), лизозомалне протеасе, су следећи кандидати. Фармаколошке студије на глодарина указују на значајан утицај инхибиције Цат на прогресију кардиоваскуларних болести и идентификацију нових Цат као обећавајућих циљева за лечење HF. То сугерише да комбинација терапија за инхибицију различитих може да се покаже корисном у лечењу HF.

Едитовање серотонинског рецептора 2C и експресија SNORD115 у мишијим моделима под измењеним срединским условима

Руководилац: Душанка Савић-Павићевић, ванредни професор, Биолошки факултет – Универзитет у Београду

Програм билатералне сарадње између Републике Србије и Републике Словеније
Трајање: 2016-2017

Учесници, Универзитет у Београду - Биолошки факултет: Павле Анђус, редовни професор, Вера Стаменковић, истраживач сарадник, Милош Бркушанин, истраживач сарадник, Јован Пешовић, истраживач сарадник, Зорана Николић, истраживач сарадник

Све више података указује да развиће и пластичност мозга укључује динамичну интеркацију између средине и регулаторне мреже РНК, укључујући и некодирајуће РНК и едитовање РНК. Серотонински рецептор 2C (HTR2C) је G протеин-купловани рецептор, широко експримиран у мозгу, који регулише исхрану, репродуктивно понашање, расположење и анксиозност. Алтернативно сплајсовање егзона Vb у пре-иРНК за HTR2C доводи до стварања нефункционалног рецептора, док аденозин у инозин едитовање истог егзона на пет позиција резултује у експресији бројних изоформи рецептора које се fino разликују у својој функционалности. Едитовање пре-иРНК за HTR2C брзо одговара на срединске стимулусе и фармаколошке агенсе мењајући ниво серотонина у синапси. Међутим, динамична регулација овог процеса је недовољно позната. РНК SNORD115 садржи конзервисани антисенс елемент који је комплементаран сегменту егзона Vb у пре-иРНК за HTR2C, али још увек није познато да ли ова регулаторна РНК утиче на сплајсовање или едитовање пре-иРНК за HTR2C. Циљ овог пројекта је да пружи бољи увид у динамику едитовања пре-иРНК за HTR2C у одговору на спољашње стимулусе, као и улогу РНК SNORD115 у фином регулисању функције HTR2C. Да би остварили наведене циљеве као модел систем срединских утицаја користићемо мишеве изложене обогаћеној средини, а од молекуларних метода применићемо методе за прећење експресије гена и профилисање едитовања аденозина у инозин.

Diverzifikacija biljaka na Balkanskom poluostrvu: filogenetske i filogeografske analize *Ranunculus* sect. *Leucoranunculus* sensu Florae Europaeae (Ranunculaceae) i kompleksa *Sesleria coeruleans* (Poaceae)

Руководилац: Проф. др Дмитар Лакушић

Програм билатералне сарадње између Републике Србије и Републике Аустрије

Трајање: 2016-2017

Учесници, Универзитет у Београду - Биолошки факултет: др Невена Кузмановић, научни сарадник

Током последњих година, у оквиру неколико филогенетских и филогеографских студија различитих биљних група из југоисточне Европе откривени су сложени обрасци географске дистрибуције генетичке разноврсности, који оспоравају традиционалне концепте у таксономији ових група. Иако су брзи диверзификациони процеси код скривеносеменица (Angiospermae) обично повезани са најизраженијим центрима флористичког диверзитета као што су тропски предели, брза диверзификација је такође установљена и у релативно малим кладама у области Медитерана или алпских региона. Ови подаци указују на то да су климатске промене које су се десиле током квартарних ледених доба можда утицале да еволутивни процеси у овим регионима буду знатно бржи и сложенији. Одавно је познато да Балканско полуострво предствља један од центара европске биолошке разноврсности и ендемизма. Применом молекуларних метода (секвенцирање ДНК и АФЛП отисци), течне цитометрије као и морфометрије, истражићемо морфолошко и генетичко разграничавање и еволутивне односе између блиско сродних врста *Ranunculus* sect. *Leucoranunculus* sensu Flora Europaea (Ranunculaceae), а посебно односе међу балканским ендемитима *R. crenatus* и *R. cacuminis* и ендемита Италије *R. magellensis*. Такође, истражићемо морфолошке и филогенетске односе унутар комплекса *Sesleria coeruleans* (Poaceae).

Примена Microbial Source Tracking (MST) методе за процену фекалног загађења воде реке Саве и повезаност са присуством генотоксичних агенаса

Руководилац: Проф. др Бранка Вуковић Гачић

Програм билатералне сарадње између Републике Србије и Републике Аустрије

Трајање: 2016-2017

Учесници, Универзитет у Београду - Биолошки факултет: Бранка Вуковић-Гачић, редовни професор, Стоимир Коларевић, научни сарадник

Велике реке обично служе као крајњи реципијенти отпадних вода. У већини земаља отпадне воде се нетретирани или неадекватно третиране испуштају у површинске воде, што може довести до високог нивоа фекалног загађења. Фекално загађење водених екосистема представља значајан ризик по здравље изложених људи и животиња јер у фекалном материјалу могу бити присутни и бројни патогени (Reischer i sar., 2008). Тотални колиформи (ТС), фекални колиформи (FC) и фекалне стрептококе (FS) су најчешће коришћени индикатори присуства ентеричних (цревних) патогена (Rompre i sar., 2002). Док присуство ТС указује на потенцијално фекално загађење (Caplenas i Kanarek, 1984; Gauthier i Archibald, 2001; Kavka i Poetsch, 2002), присуство FC са високом вероватноћом указује на постојање фекалног загађења. Најважнији представник у групи FC је *Escherichia coli* и заједно са FC се широко користи у испитивању квалитета воде (European Commission, 2006). Концепт праћења порекла фекалног загађења микробиолошким, генотипским, фенотипским и хемијским методама означен је као Праћење Извора Микробног Загађења енг. Microbial Source Tracking (MST) (Scott i sar., 2002). Група Bacteroidetes представља једну од доминантних бактеријских популација у људском и анималном фекалном материјалу, чини око 30% биомасе фецеса и снажно је повезана са одређеним извором загађења (људи, преживари, итд.). Како се већина припадника Bacteroidetes популација не може изоловати стандардним микробиолошким методама култивације, одговарајућа метода за њихову детекцију управо је директна молекуларна детекција применом qPCR-а. Присуство фекалног загађења у акватичим екосистемима често је повезано са присуством генотоксичних агенаса чији се ефекти могу детектовати у различитим акватичним организмима.

Involvement of tenascin-C in astrocyte scarring after spinal cord injury

Principal Investigator: Pavle Andjus, professor, Faculty of Biology – University of Belgrade

Funded by: Bilateral grant between Republic of Serbia and Republic of Germany - DAAD (2015-2016)

Participants from Faculty of Biology – University of Belgrade: Milena Milošević, assistant professor, Vera Stamenković, research assistant, Dunja Bjelić, PhD student

We aim to investigate the function of tenascin-C (TNC) in glial scar formation by the use of the recombinant fragments (alternatively spliced domains) of the TNC molecule in the well-established model of mouse spinal cord injury. TNC was chosen because its impact on the locomotor recovery after spinal cord injury is known, but due to its complex structure with multiple domains, its full therapeutic potential has not been explored so far. Aim 1: To investigate impact of TNC and its fragments on astrocyte motility and reactive gliosis astrocyte scratch assay as an in vitro model will be used. Aim 2: To investigate the influence of TNC fragments on glial scar formation in vivo after spinal cord injury lower thoracic spinal cord compression will be performed in wild-type and TNC-deficient (TNC^{-/-}) mice.

Freshwater invertebrates as bioindicators of environmental exposure to the residues of cytostatics

Principal Investigator: Branka Vuković-Gačić, professor, Faculty of Biology, University of Belgrade

Funded by: Bilateral grant between Republic of Serbia and Republic of Slovenia (2015-2016)

Participants from Faculty of Biology – University of Belgrade: Jelena Knežević-Vukčević, professor, Biljana Nikolić, assistant professor, Stoimir Kolarević, research associate

The occurrence of pharmaceuticals in the environment may be the consequence of their insufficient removal during wastewater treatment, stability towards photolysis, slow degradation, etc. Knowing that lower organisms in aquatic ecosystems have receptors and pathways similar to humans, pharmaceuticals, especially cytostatics, may affect their growth and reproduction, including a range of physiological, histological and molecular responses, alterations of antioxidative status, induction of DNA damage, etc. The biological consequences of DNA damage can be initiated at the cellular, organ, and whole animal and community and population levels.

Freshwater mussels are commonly employed in the ecogenotoxicological studies. They have several characteristics, such as wide distribution, filter feeding, a sessile life form and an ability to accumulate pollutants, which makes them favorable organisms for estimating the environmental pollution level and the bioavailability of various types of pollutants. In response to environmental stress they show a range of physiological, histological and molecular responses, including abnormal morphology, alterations of antioxidative status, induction of DNA damage, etc. Previous studies in Serbia (Kolarević et al. 2013; Vuković-Gačić et al. 2013) have shown high sensitivity of freshwater mussels *Unio pictorum* and *Unio tumidus* for the detection of genotoxic pollution in the environment.

Freshwater oligochaete *Limnodrilus udekemianus* is a cosmopolitan tubificid species often found in organic-rich sediment. Many of freshwater oligochaetes with their benthic, sediment borrowing way of life and low mobility directly interact in the recycling of materials in water and sediment, in a food chain structure, and therefore they are especially affected by the presence of xenobiotics in aquatic environment.

In the proposed project we will explore toxic and genotoxic effect of the residues of different cytostatics as well as their mixtures and mixtures with other common pollutants (i.e. heavy metals) at concentrations relevant for environmental pollution in freshwater mussels and in *Limnodrilus udekemianus*. The genotoxic effects will be compared the effects obtained in zebrafish liver cell line (ZFL), which is an established in vitro model for aquatic toxicity.

Structural and functional studies of mitochondrial oxidative phosphorylation complexes

Principal Investigator: Aleksandra Korać, professor, Faculty of Biology, University of Belgrade

Funded: Bilateral grant between Republic of Serbia and Republic of France – Pavle Savić (2014-2015)

Participants from Faculty of Biology, University of Belgrade: Igor Golić, Research Assistant

The major components of the mammalian system of oxidative phosphorylation (OXPHOS) in mitochondria are four complexes of the respiratory chain: NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I), succinate:ubiquinone oxidoreductase (complex II), ubiquinon:cytochrome c oxidoreductase (complex III), cytochrome c oxidase (complex IV), and F₀F₁-ATP synthase (complex V). These complexes are functionally active even when isolated as individual complexes. This was a basis for the original model of their organization according to which the complexes organize independently and diffuse freely in the mitochondrial membrane. However, there is increasing evidence that complex V exists as a dimer in mitochondrial membranes and that the respiratory chain is a network of respiratory chain supercomplexes. In this model, the various complexes exist as organized sets of interacting enzymes, and their composition and abundance vary with physiological conditions. These associations might allow channeling of substrates between the various enzyme complexes, increasing the rate and efficiency of electron transfer. Depending on the cell type and its metabolic needs, the number of complexes and their assemblies into supercomplexes may vary as they are regulated by the cell. For instance, some data suggest a ratio between complexes I/II/III/IV and the ATP synthase of approximately 1:1:3:7:4. However, the debate over this ratio is not completely resolved, as some data do not appear to fit with it and it is not clear if this model is valid for all cell types. It is thus important to study isolated complexes from a high number of mitochondria in different metabolic conditions. Brown adipocytes, cells extremely rich in mitochondria, essential for thermogenesis and energy balances maintenance in diet and cold challenges for mammals, are thus ideal model for visualizing these supercomplexes by electron microscopy (EM) image analysis that is a goal of this study. By studying different conformations of the supercomplexes, we will be able to establish a model of molecular mechanisms underlying metabolic changes in rat brown adipocyte's mitochondria induced by cold or hibernation.

Механизам патогенезе умножених поновака у гену C9orf72 код амиотрофичне латералне склерозе и фронтотемпоралне дегенерације

Руководилац: Павле Анђус, редовни професор, Биолошки факултет – Универзитет у Београду

Програм билатералне сарадње између Републике Србије и Републике Словеније

Трајање: 2014-2015

Учесници Биолошки факултет – Универзитет у Београду: Станка Ромац, редовни професор, Душанка Савић-Павићевић, ванреди професор, Милена Милошевић, доцент, Стефан Стаменковић, истраживач сарадник, Јован Пешовић, истраживач сарадник

Са продужењем животног века човека неуродегенеративне болести постају растућа претња за здравство и економију. Поред тога, услед озбиљних сметњи и инвалидитета које узрокују, као и тешке и захтевне неге неуродегенеративне болести имају негативан социјални утицај на пацијенте, неговатеље и њихове породице. Честа је њихова погрешна или закаснела дијагноза јер неки од раних симптома личе на нормалан процес старења и постепено се развијају. Још увек не постоје ефикасни лекови који би зауставили прогресију болести. Из наведених разлога, једна од главних области у неуродегенеративним истраживањима је разумевање молекуларних механизма болести који би помогли у идентификацији и превенцији болести у раној фази. Амиотрофична латерална склероза (АЛС) је неуродегенеративна болест са касним почетком и карактерише се протеинопатијама РНК-везивних протеина ТДП-43 или ФУС/ТЛС или, у неким случајевима, ензима Cu/Zn супероксид дисмутаза (СОД1). То је болест нервних ћелија мозга и кичмене мождине које контролишу вољне покрете мишића и има тешку и брзу прогресију, са преживљавањем од три до пет година од појаве симптома. АЛС се у погледу генетике, патологије и биохемије преклапа са фронтотемпоралном деменцијом (ФТЛД). Заправо, ове болести су највероватније два краја једног сложеног континуума болести. Код особа млађих од 65 година, ФТЛД је најчешћа деменција после Алцхајмерове болести. Пацијенти се карактеришу прогресивним пропадањем праћеним екстремним променама у понашању, као што су апатија и еуфорија, проблемима у говору и језику, поремећајима покрета и, у каснијим фазама, симптомима сличним оним код Алцхајмерове болести који могу захтевати медицинску негу. Недавно је откривено да је експанзија хексануклеотидних поновака ГТТГЦЦ (Г4Ц2) у интрону гена C9orf72 повезана са АЛС и ФТД, што је ове болести сврстало на растућу листу болести експанзија нестабилних поновака и додатно потврдило концепт о АЛС-ФТЛД континууму. Експанзија у гену C9orf72 је идентификована код приближно 40% фамилијарних облика АЛС, 25% фамилијарних облика ФТЛД и 6-7% спорадичних случајева АЛС и ФТЛД, тако да представља најчесталији појединачни генетички узрок ТДП-43 протеинопатија. За сада није познато како експанзије поновака у гену C9orf72 узрокују АЛС и ФТЛД.

Epidemiological risk models for vector borne diseases in a changing world: The case study of mosquito and tick-borne diseases under different conditions of habitat integrity, environment and climate

Principal Investigator: Duško Ćirović, Associate professor Faculty of Biology, University of Belgrade

Funded: Bilateral grant between Republic of Serbia and Republic of Italy (2013-2015)

Participants from Faculty of Biology, University of Belgrade: Aleksandra Penezić, assistant, Jelena Burazerović, Research Assistant

The main objective of this project is to investigate the epidemiology of tick-borne diseases and of its sylvatic hosts through evaluation of the influence of anthropogenic impact and climate changes on the risk of vector-borne diseases transmission. The project aims to develop an epidemiological model for vector-borne diseases in the Red fox *Vulpes vulpes* under different Italian and Serbian environmental characteristics. This species plays a relevant role as reservoir and vector of pathogens. We will focus on different vector-borne diseases that can affect red fox: a mosquito-borne disease (*Dirofilaria immitis*) and different tick-borne diseases (*Babesia sp*, *Ehrlichia sp.*, *Anaplasma phagocitophilum*). In this way it will be possible to verify a number of mechanisms through which environment affects the spread of these pathogens. The use of GIS and georeferenced environmental information allow to analyze the complex system of relationships existing between the distribution of a pathogen, of its vectors and hosts, together with the simultaneous presence of favourable environmental conditions for disease spreading.