



**INSTITUT ZA POVRTARSTVO
SMEDEREVSKA PALANKA**

**Biotehnologija i savremeni pristup
u gajenju i oplemenjivanju bilja**

Nacionalni naučni skup sa
međunarodnim učešćem

ZBORNİK RADOVA

Smederevska Palanka, 2. novembar 2023.

INSTITUT ZA POVRTARSTVO SMEDEREVSKA PALANKA

Biotehnologija i savremeni pristup u gajenju i oplemenjivanju bilja

Nacionalni naučni skup sa međunarodnim
učešćem

ZBORNİK RADOVA

Smederevska Palanka

2. novembar 2023.

Zbornik radova

**Biotehnologija i savremeni pristup u gajenju i
oplemenjivanju bilja**

Nacionalni naučni skup sa međunarodnim učešćem

Smederevska Palanka, 2. novembar 2023.

Izdavač

Institut za povrtarstvo Smederevska Palanka
www.institut-palanka.rs

Za izdavača

Prof. dr Nenad Đurić, viši naučni saradnik
Direktor Instituta za povrtarstvo

Glavni i odgovorni urednik

Dr Kristina Luković, naučni saradnik

Urednici

Dr Milan Ugrinović, viši naučni saradnik
Dr Vladimir Perišić, naučni saradnik

Štampa

Art Vision, Starčevo

Tiraž 60 komada

ISBN

978-86-89177-06-0



**PRIMENA MOLEKULARNIH TEHNIKA REAFIRMIŠE
MUTACIONO OPLEMENJIVANJE POVRĆA**

**APPLICATION OF MOLECULAR TECHNIQUES REAFFIRMS
MUTATION BREEDING OF VEGETABLES**

Slaven Prodanović¹, Radiša Đorđević², Irena Radinović¹, Tomislav Živanović¹,
Jasna Savić¹

¹*Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd*

²*Institut za povrtarstvo, Smederevska Palanka*

Autor za korespondenciju: slavenp@agrif.bg.ac.rs

Izvod

U ovom preglednom radu prvo su opisane klasične metode mutageneze i mehanizam nastanka mutacija, a zatim su nabrojane molekularne tehnike u mutacionom oplemenjivanju: 1. inserciona mutagneza, 2. transformacije, 3. editovanje i 4. TILLING. Najveća pažnja posvećena je TILLING tehnici kroz prikaz svake od njenih etapa. Molekularne tehnike omogućuju unos gena za poželjne osobine u genom i unapređuju klasičnu selekciju u mutacionim populacijama kroz analizu ciljanih mesta na genomu. Ove prednosti molekularnih tehnika reafirmišu mutaciono oplemenjivanje povrća i drugih grupa biljaka.

Ključne reči: mutageneza, mutagen, neusklađenost, TILLING, heterodupleks analiza

Abstract

In this review paper, the classical methods of mutagenesis and the mechanism of mutations are first described, and then the molecular techniques in mutation breeding are listed: 1. insertional mutagenesis, 2. transformations, 3. editing and 4. TILLING. The greatest attention is paid to the TILLING technique through the presentation of each of its stages.

Molecular techniques enable the introduction of genes for desirable traits into the genome and improve classical selection in mutational populations through the analysis of targeted sites on the genome. These advantages of molecular techniques reaffirm the mutational breeding of vegetables and other plant groups.

Key words: mutagenesis, mutagen, mismatch, TILLING, heteroduplex analysis

Uvod

Indukovanje mutacija je jedna od oplemenjivačkih metoda. Era indukovanih mutacija započinje 1927. godine kada je Hermann J. Muller izazvao promene na vinskoj mušici *Drosophila* delovanjem X-zraka. Godinu dana kasnije, Lewis Stadler sa Univerziteta u Misuriju koristio je X-zrake na kukuruзу i ječmu, što je dovelo da pojave njihovih novih formi sa prugama različitih širina u nijansama bele i žute boje. Širom sveta, u godinama koje su sledile proizvedeno je na stotine genotipova biljaka primenom mutacija, uključujući poznate sorte kod povrtarskih vrsta kao što su: paradajz, paprika, pasulj (boranija), bamnja (Asare et al., 2017) i druge. Na primer, u TOMATOMA bazi podatka (Saito et al., 2011) navedeno je 178 mutacionih linija paradajza dobijenih gama-zracima. U proizvodnji se nalazi mutant paprike Candlelight, koji se odlikuje izuzetno tankim listovima i cvetovima, a takođe su dostupne muški sterilne linije paprike (Daskaloff, 1968). Dejstvom X-zraka na semena boranije *Phaseolus vulgaris* 'EC1906' dobijen je mutant Sel2PI2 poznatiji kao Pusa Parvati sa zelenim mahunama dobrog kvaliteta za kuvanje, spreman za prvo branje 45-50 dana nakon setve (Gill et al., 1972). Primenom mutacija na različitim povrtarskim vrstama izvršena je promena boje plodova (Tomlekova et al., 2021), promena morfologije biljke (Ilyas and Naz, 2014; Samuel et al., 2021), povećanje otpornosti na patogene (Gaswanto et al., 2016), povećanje otpornosti na oksidativni stres (Kebeish et al., 2015), i drugo.

U Srbiji, mutacije su pre nekoliko decenija smatrane za perspektivnu metodu oplemenjivanja biljaka. To se posebno odnosilo na primenu fizičkih mutagena, odnosno raznih tipova zračenja (radijacija) za indukovanje mutacija. Godine 1959. u Beogradu je osnovan Institut za primenu nuklearne energije u poljoprivredi, skraćeno INEP, čiji je osnovni

istraživački cilj bio da razvija tehnike u ovoj oblasti. U to doba, srpski istraživači su pomno pratili svetske trendove u vezi mutacija i odlazili na usavršavanja u eminentne svetske institucije koje se bave mutagenozom. Najpoznatija međunarodna naučna institucija za istraživanja i primenu mutacija je International Atomic Energy Agency (skraćeno IAEA) u Beču.

Osnovni nedostatak mutacija je nemogućnost da se one usmere na određene gene, odnosno da se planira, tj. predvidi njihov efekat na fenotip. Mutacije su nepredvidljive pojave i najčešće dovode do stvaranja onih oblika osobina koje su prisutne kod srodnika tretiranih gajenih biljaka. Od početnog entuzijazma, interesovanje za mutacije je u Srbiji postepeno opadalo. Tako se INEP sedamdesetih godina XX veka preorjentisao na primenjenu istraživanja iz biomedicinskih i biotehničkih nauka, usled nedostatka značajnijih rezultata u poljoprivredi. Danas se mutacije u poljoprivredi Srbije vrlo retko koriste (Cvejic et al., 2011). Preovlađujuća metoda u oplemenjivačkim institucijama u Srbiji za stvaranje varijabilnosti biljaka je hibridizacija.

Međutim, sa razvojem novih molekularnih tehnologija u svetu se usavršavao proces indukovanja mutacija, tako da su glavni nedostaci primene mutacija u poljoprivredi u velikoj meri prevaziđeni i predstavljaju sve manji problem. U tom smislu, možda je ovo dobar momenat da se pristupi reafirmaciji primene mutacija u oplemenjivanju poljoprivrednih biljaka u Srbiji. Cilj ovog rada je da predstavi neke od molekularnih metoda i tehnika koje su aktuelne u mutacionom oplemenjivanju u svetu.

Metode mutageneze i mehanizam nastanka mutacija

Mutacija je nasledna promena (lat. *mutatio* - promena) u sastavu genetičkog materijala. Mutacija u užem smislu ili genska mutacija se odnosi na promenu u postojećem redosledu ili broju nukleotida na lancu DNK. Mutageneza je proces koji dovodi do nastanka mutacija (Chatterjee and Walker, 2017). Mutageni agensi ili mutageni su sredstva pomoću kojih se indukuju mutacije, a oni se dele na fizičke i hemijske mutagene. Fizički mutageni su jonizujuća i nejonizujuća zračenja (radijacija), a hemijski mutageni se prema obliku dejstva dele na: alkilirajuće agense, bazne analoge, akridinske boje i druge (Benigni, 2005). Indukcija mutacija kod biljaka obavlja se kada se njene ćelije nalaze u intenzivnoj deobi. Na primer, za biljni materijal u kome se indukuju mutacije uzimaju se semena u fazi klijanja.

Mehanizam nastanka mutacija je dvojak. Mutacije nastaju usled: 1. supstitucije (zamene) pojedinačnog nukleotida u DNK lancu i 2. mikro-indel promene, odnosno ubacivanja (inercije) ili izbacivanja (delecije) jednog ili manjeg broja nukleotida iz DNK lanca.

Supstitucija pojedinačnog nukleotida se označava kao tačkasta mutacija, jer se radi o promeni koja se odigrava na jednom mestu, na jednoj poziciji u DNK lancu (Cordoba-Cañero et al., 2009). Kada je u populaciji zastupljena određena sekvenca DNK sa i bez tačkaste mutacije, radi se o polimorfizmu pojedinačnog nukleotida (SNP). Nakon supstitucije pojedinačnih nukleotida ispoljava se neusklađenost (eng. mismatch) između dva lanca DNK. S obzirom da se nekomplementarni nukleotidi postavljaju jedan prema drugom u dvolančanoj DNK, kida se hidrogenska veza između njih i obrazuje se “mehurić” u građi DNK.

Mikro-indel mutacija je ona pri kojoj se dešava dodavanje (inercija, adicija) ili izbacivanje (brisanje, delecija) jednog ili manjeg broja (do 30) nukleotida. Mikro-indel menja sekvencu DNK i menja ukupan broj nukleotida u sekvenci. Za mikro-indel mutaciju unutar egzona koristi se izraz mutacija pomeranja okvira čitanja (eng. frame shift mutation). Pomeranje sekvence na matričnom lancu DNK za jednu ili nekoliko baza prouzrokuje da čitav niz kodona na iRNK, nizvodno od mesta mutacije, ne odgovara originalnoj informaciji za sintezu proteina. Pri mikro-indel mutaciji, sekvenca novog proteina ima ne samo jednu promenjenu aminokiselinu, kao kod tačkaste mutacije, nego veliki broj izmenjenih aminokiselina. Ako je jedan od izmenjenih kodona besmislen, on zaustavlja sintezu proteina.

Molekularne tehnike u mutacionom oplemenjivanju

Poslednjih decenija dolazi do brojnih otkrića u molekularnoj biologiji i razvoja velikog broja molekularnih tehnika. Mnoge molekularne tehnike našle su primenu u poljoprivredi, kao na primer: PCR kod *Aegilops speltoides* (Wang et al., 2018), FISH kod interspecies hibrida pšenice i prosa (Gernand et al., 2005), HPLC kod pšenice (Wu et al., 2017), kloniranje i sekvenciranje kod *Triticum spelta* (Wang et al., 2021).

Za potrebe unapređenja klasične mutageneze (zasnovane na primeni fizičkih i hemijskih mutagena) i efikasnije selekcije u mutacionim populacijama razvijaju se specijalizovane molekularne tehnike. U spektar takvih tehnika mogu se uvrstiti: 1. inserciona mutageneza, 2. transformacije,

3. editovanje i 4. TILLING, kome je posvećena najveća pažnja u ovom radu. Ove tehnike su usmerene na promene ciljanih mesta na genomu, najčešće jednog gena ili nekoliko gena, kao i unos gena za poželjne osobine u genom (Oladosu et al., 2016). Primena molekularnih tehnika je povećala izvesnost realizacije ideotipa.

Inserciona mutageneza ima za cilj da utiša gen, odnosno da prekine njegovo normalno funkcionisanje. Zasniva se na unosu određene strane sekvence u gen. Insercija fragmenta vrši se pomoću: 1. transpozona i 2. RNAi.

Transpozonska mutageneza odnosi se na inserciju ili izbacivanje sekvenci DNA iz genoma. Pri tehnici se koriste transpozonski elementi sa randomnim insertovanjem u genomu, što izaziva mutacije usled prekida gena ili premeštanja DNA sekvenci na druge lokuse.

Interferencija RNA (RNAi) je pojava da dvolančani molekuli RNA vrše supresiju genske ekspresije specifičnih sekvenci (Kleter, 2020). Proces se odvija kroz transkripcionu ili translacionu represiju pomoću dvolančanih molekula RNA. Jednom kada se mRNA razgradi, više se ne obrazuje protein. Radi se o dva tipa molekula RNA: mala interferirajuća RNA (siRNA, small interfering RNA) i mikro interferirajuća RNA (miRNA, micro interfering RNA). RNAi su otkrili Andrew Fire and Craig Mello, 1998. godine, a to otkriće se smatra jednim od najvećih u molekularnoj biologiji tokom poslednjih decenija, te je nagrađeno Nobelovom nagradom iz fiziologije u 2006. godini. Istorijski gledano, za RNAi je u prethodnom periodu korišćen naziv transkripciono utišavanje gena (TGS, transcriptional gene silencing) i post-transkripciono utišavanje gena (PTGS, post-transcriptional gene silencing).

Transformacije pomoću agrobakterijuma menjaju naslednu osnovu organizama, te se mogu smatrati oblikom planskih, indukovanih mutacija.

Editovanje se zasniva na tehnologijama kao što su ZFN, TALEN i CRISPR-Cas9 za ciljano menjanje genoma i gena, odnosno preciznu mutagenezu.

Nukleaze cinkovog prsta (ZFN, eng. zinc-finger nucleases) i efektorske nukleaze slične aktivatoru transkripcije (TALEN, eng. transcription activator-like effector nucleases) su moćne molekularne alatke za usmeravanje i modifikaciju specifičnih genskih sekvenci (Bibikova et al, 2002).

CRISPR-Cas9 je skraćena za klasterisana pravilno raspoređena kratka palindromska ponavljanja (eng. clustered regularly interspaced short

palindromic repeats) i protein Cas9 povezan sa CRISPR-om. CRISPR-Cas9 sistem je brži, jeftiniji i tačniji od ZFN i TALEN. CRISPR-Cas9 uređuje gene preciznim sečenjem DNK, a proces se zatim nastavlja prirodnim procesima popravke DNK (Shen et al., 2017). Za razvoj metoda editovanja genoma pomoću CRISPR-Cas9 dodeljena je 2020. godine Nobelova nagrada Emmanuelle Charpentier sa Max Planck Instituta u Berlinu, Nemačka, i Jennifer Doudna sa Univerziteta Kalifornija u Berkliju, SAD.

TILLING (= targetovanje/ciljanje indukovanih lokalnih lezija u genomima, eng. targeting induced local lesions in genomes) je reverzna genetička tehnika visoke propusnosti za otkrivanje indukovanih point mutacija u regionima DNK od interesa. Postoje modifikacije ove tehnike kao što su De-TILLING, eco-TILLING, i-TILLING i druge (Raja et al., 2017).

Etape TILLING postupka su: 1. mutageni tretman i generisanje M1 i M2 generacije, 2. izolacija i udruživanje (= puling, eng. pooling) DNA, 3. PCR amplifikacija, praćena denaturacijom i renaturacijom amplifikovanog ciljnog DNA segmenta, 4. presecanje (= digestija) ssDNA heterodupleksa dejstvom specifičnih endonukleaza, 5. vizualizacija fragmenata heterodupleksa primenom elektroforeze i identifikacija mutanata i 6. sekvenciranje fragmenata DNA (Chen et al., 2014, Irshad et al., 2020).

1. Mutageni tretman semena biljaka se uobičajeno sprovodi primenom etil-metan-sulfonat (EMS). Biljke iznikle iz tretiranog semena predstavljaju M1 generaciju, a njihovim samooplođenjem dobija se M2 generacija. TILLING omogućava analizu velikog broja biljaka (na primer, nekoliko hiljada) u populacijama M2 generacije. S obzirom da se očekuje da od velikog broja biljaka pojedine M2 biljke sadrže mutaciju u regionu DNK od interesa, potrebno je uspostaviti banku M3 semena. Time se osigurava proizvodnja narednih generacija mutanata od interesa i nastavak njihovog proučavanja i korišćenja.

2. Izolacija DNK se vrši iz svake M2 biljke ili čak iz različitih delova pojedinačnih M2 biljaka. Posle dobijanja individualnih uzoraka DNK, često se obavlja njihovo udruživanje, primenom odabranog modela. To znači da se od 8-12 ili više uzoraka DNK uzima deo svakog u jednakim količinama i pravi zbirni uzorak (= pul, eng. pool). Ovo se radi zbog smanjenja troškova i vremena potrebnog za analizu. Regioni od interesa su obično kratke sekvence, do 1,5 kb, te je mala verovatnoća da se mutacija desila baš tu. Ako bi se koristila DNK svake M2 biljke, bez udruživanja (=

objedinjavanja) uzoraka, trebalo bi obaviti na hiljade analiza da bi se tek za jedan uzorak DNK ili vrlo mali broj uzoraka utvrdilo da sadrže mutirani ciljani region DNK (uobičajeno se radi o nekom genu). Stoga je praktičnije analizirati stotinak zbirnih uzoraka, a kada se na kraju procesa otkrije koji od njih sadrži mutiranu DNK, onda se pojedinačno pregleda DNK individualnih uzoraka koji sačinjavaju taj zbirni uzorak.

3. *PCR amplifikacija ciljnog DNK segmenta* na kojem se traži mutacija ima za templejt DNK pulova. Za PCR se koriste prajmeri obeleženi fluorescentnom infracrvenom (IR) bojom. Sekvenca DNK (gena) za dizajniranje prajmera uzima se iz SRA, sa sajta NCBI. Posle amplifikacije ciljnog segmenta DNK pula, pristupa se njegovoj denaturaciji visokim temperaturama, kako bi se razdvojio na jednostruke lance DNK. Potom se temperatura postepeno spušta da bi se lanci ponovo spojili. Ukoliko ciljani segment DNK pula ne sadrži tačkastu mutaciju, rezultat renaturacije su samo kopije divljeg tipa DNK. One se označavaju kao homodupleksi. Ukoliko postoji mutacija na ciljnoj DNK biljke nakon renaturacije obrazuje se heterodupleks. Heterodupleks sadrži lanac amplikona sa mutacijom i njegov parnjak bez mutacije, poreklom od izvornog (divljeg) genotipa. Heterodupleks ima neusklađenost na mestu mutacije u obliku mehurića. Srž TILLING tehnike predstavlja heterodupleks analiza (HAD).

4. *Presecanje DNK heterodupleksa* obavlja se primenom specifičnih endonukleaza koje prepoznaju mesta neusklađenosti (mismatch) između dva lanca DNK. Najčešće se koristi ss-nukleaza CEL I, dobijena iz ekstrakta celerovog soka (eng. CJE, Celery Juice Extract). CEL I seče jednostruke lance amplikona na mestu tačkaste mutacije. Enzim se inkubira u test-tubama sa PCR produktima. Till et al. (2004) su opisali da je CEL I bila u stanju da specifično fragmentira amplikone na svim mestima nepodudarnosti pojedinačnih parova baza kod *Arabidopsis thaliana*.

5. *Vizualizacija fragmenata heterodupleksa* započinje njihovom separacijom na denaturišućoj PAGE. Na gelu se razdvajaju PCR produkti različite dužine sekvence. Najveću dužinu i najmanje migriranje ima denaturisani PCR produkt pulova DNK bez mutacija. Kod pulova DNK sa mutacijom u amplikonu, na gelu se uočavaju dva produkta kratkih sekvenci, obeleženi sa IR bojom. Ovi produkti predstavljaju fragmente ssDNK nastale presecanjem heterodupleksa. Obeleženi fragmenti se detektuju fluorescentno. Pozicija na kojoj se nalaze fragmenti na gelu ukazuje na dužinu njihove sekvence. Detekcijom obeleženih fragmenata

identifikuju se pojedinačni pulovi koji nose mutaciju. Time je pretraga za M2 biljkom sa mutacijom na ciljnoj sekvenci (genu) znatno sužena, preostaje još da se ponove PCR i HAD pojedinačno za svaki od konstituenata DNK pula.

6. *Sekvenciranje fragmenata ssDNK* ima za cilj da otkrije tačnu poziciju i tip mutacije. Na primer, kod pojedinih M2 biljaka uočava se mutacija izmenjenog smisla, dok se kod drugih M2 biljaka uočava besmislena mutacija. Sekvenciranje pomaže oplemenjivaču da poveže promenu na nivou DNK sa fenotipom M2 biljke, tj. da tačno odredi kako je promena nukleotida na određenoj poziciji uticala na osobinu od interesa. Biljke koje imaju mutacije od praktičnog ili istraživačkog značaja održavaju se korišćenjem banke M3 semena i proizvodnjom biljaka M4 i narednih generacija, sve do dobijanja čistih mutacionih linija (Kurowska et al., 2011).

Jedna od opcija u oplemenjivanju je da se od biljaka koje ispoljavaju poželjne promene na fenotipskom nivou za gen koji je praćen pomoću TILLING, izoluje taj gen, (ili nekoliko gena, ako se TILLING primenjavao za više gena). Potom je potrebno obaviti kloniranje tog ili tih gena i izvršiti transformacija ma koje željene sorte. Na taj način dobija se poboljšana postojeća sorta za određeni oblik osobine od interesa, pri čemu je taj oblik osobine stvoren mutagenezom (Kim et al., 2014).

Zaključak

Otkrića u molekularnoj biologiji i razvoj molekularnih alatki omogućio je uspostavljanje specijalizovanih molekularnih tehnika za mutaciono oplemenjivanje. U ovom radu kratko su prikazane tehnike insercione mutagneze, transformacija, editovanja, dok je TILLING tehnika nešto detaljnije prikazana. Molekularne tehnike imaju prednost u odnosu na klasičnu mutagenezu, jer su one usmerene na promene ciljanih mesta na genomu, najčešće određenih gena, ili unos određenih gena u genom. Time se povećava izvesnost dobijanja željenog mutiranog fenotipa i reafirmiše mutaciono oplemenjivanje povrća.

Zahvalnica

Ovaj rad je nastao kao rezultat istraživanja u okviru Ugovora broj 451-03-47/2023-01/200116 o realizaciji i finansiranju naučno-istraživačkog rada u 2023. godini, između Ministarstva nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije i Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Literatura

- Asare, A.T., Mensah, F., Acheampong, S., Asare-Bediako, E., Armah, J. (2017). Effects of gamma irradiation on agromorphological characteristics of okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench.). *Advances in Agriculture* 2017(3): 1-7. doi: 10.1155/2017/2385106.
- Benigni, R. (2005). Structure–activity relationship studies of chemical mutagens and carcinogens: mechanistic investigations and prediction. *Approaches Chemical Reviews* 105(5): 1767–1800. doi: 10.1021/cr030049y
- Bibikova, M., Golic, M., Golic, K.G., Carroll, D. (2002). Targeted chromosomal cleavage and mutagenesis in *Drosophila* using zinc-finger nucleases. *Genetics* 161: 1169-1175. doi: 10.1093/genetics/161.3.1169
- Bray, C.M., West, C.E. (2005). DNA repair mechanisms in plants: crucial sensors and effectors for the maintenance of genome integrity. *New Phytologist* 168: 511- 528. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01548.x
- Chatterjee, N., Walker, G.C. (2017). Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 58: 235-263. doi: 10.1002/em.22087
- Chen, L., Hao, L., Parry, M.A., Phillips, A.L., Hu, Y.G. (2014). Progress in TILLING as a tool for functional genomics and improvement of crops. *Journal of Integrative Plant Biology* 56: 425-443. doi: 10.1111/jipb.12192
- Cordoba-Cañero, D., Morales-Ruiz, T., Roldan-Arjona, T., Ariza, R.R. (2009). Single-nucleotide and long-patch base excision repair of DNA damage in plants. *The Plant Journal* 60: 176-180. doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.03994.x
- Cvejic, S., Jovic, S., Prodanovic, S., Terzic, S., Miladinovic, D, Balalic, I. (2011). Creating new genetic variability in sunflower using induced mutations. *Helia* 34(55): 47-54. doi: 10.2298/HEL1155047C.
- Daskaloff, S. (1968). A male sterile pepper (*C. annuum* L.) mutant. *Theoretical and Applied Genetics* 38(8): 370-372. doi: 10.1007/BF00934170

- Gaswanto, R., Syukur, M., Purwoko, B.S., Hidayat, S.H. (2016). Induced mutation by gamma rays irradiation to increase chilli resistance to Begomovirus. *Agrivita Journal of Agricultural Science* 38: 24-32. doi: 10.17503/agrivita.v38i1.581
- Gernand, D., Rutten, T., Varshney, A., Rubtsova, M., Prodanovic, S., Brüß, C., Kumlehn, J., Matzk, F., Houben, A. (2005). Uniparental chromosome elimination at mitosis and interphase in wheat and pearl millet crosses involves micronucleus formation, progressive heterochromatinization, and DNA fragmentation. *The Plant Cell* 17(9): 2431-2438. doi: 10.1105/tpc.105.034249
- Gill, H.S., Singh, J.P., Tewari, R.N., Sharma, R.K., Swarup, V. (1972). Pusa Parvati, a profitable variety of French beans. *Indian Horticulture* 16(4): 19-20.
- Ilyas, S., Naz, S. (2014). Effect of gamma irradiation on morphological characteristics and isolation of curcuminoids and oleoresins of *Curcuma longa* L. *Journal of Animal and Plant Sciences* 24(5): 1396-1404. doi: 10.30574/gscbps.2018.2.3.0014.
- Irshad, A., Guo, H., Zhang, S., Liu, L. (2020). TILLING in cereal crops for allele expansion and mutation detection by using modern sequencing technologies. *Agronomy* 10: 405. doi: 10.3390/agronomy10030405
- Kebeish, R., Deef, H., El-Bialy, N. (2015). Effects of gamma radiation on growth, oxidative stress, antioxidant system, and alliin producing gene transcripts in *Allium sativum*. *International Journal of Research Studies in Biosciences* 3(3): 161–174. ISSN 2349-0357 (Print).
- Kim, S., Tai, T.H. (2014). Identification of novel rice low phytic acid mutations via TILLING by sequencing. *Molecular Breeding* 34: 1717-1729. doi: 10.1007/s11032-014-0127-y
- Kleter, G.A. (2020). Food safety assessment of crops engineered with RNA interference and other methods to modulate expression of endogenous and plant pest genes. *Pest Management Science* 76(10): 3333-3339. doi: 10.1002/ps.5957
- Kurowska, M., Daszkowska-Golec, A., Gruszka, D., Marzec, M., Szurman, M., Szarejko, I. (2011). TILLING-a shortcut in functional genomics. *Journal of Applied Genetics* 52: 371-390. doi: 10.1007/s13353-011-0061-1
- Oladosu, Y., Rafii, M.Y., Abdullah, N., Hussin, G., Ramli, A., Rahim, H.A. (2016). Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. *Biotechnological Equipment* 30(1): 1-16. doi: 10.1080/13102818.2015.1087333
- Raja, R.B., Agasimani, S., Jaiswal, S., Thiruvengadam, V., Sabariappan, R., Chibbar, R. N. (2017). EcoTILLING by sequencing reveals polymorphisms in genes encoding starch synthases that are associated with low glycemic response in rice. *BMC Plant Biology* 17: 13. doi: 10.1186/s12870-016-0968-0

- Saito, T., Ariizumi, T., Okabe, Y., Asamizu, E., Hiwasa-Tanase, K., Fukuda, N., Mizoguchi, T., Yamazaki, Y., Aoki, K., Ezura, H. (2011). TOMATOMA: a novel tomato mutant database distributing Micro-Tom mutant collections. *Plant and Cell Physiology* 52(2): 283-296. doi: 10.1093/pcp/pcr004
- Samuel, O.K., Funsho, O., Charity, A., Stephen, A., Sunday, I. (2021). Determination of morphological changes using gamma irradiation technology on capsicum specie varieties. *Open Agriculture* 6: 135-142. doi: 10.1515/opag-2020-0177
- Shen, H., Strunks, G.D., Klemann, B.J., Hooykaas, P.J., de Pater, S. (2017). CRISPR/Cas9-induced double-strand break repair in *Arabidopsis* nonhomologous end-joining mutants. *G3 (Bethesda)* 7: 193-202. doi: 10.1534/g3.116.035204
- Till, B.J., Reynolds, S.H., Weil, C., Springer, N., Burtner, C., Young, K., Bowers, E., Comomo, C.A., Enns, L.C., Odden, A.R., Greene, E.A., Comai, L., Henikoff, S. (2004). Discovery of induced point mutations in maize genes by TILLING. *BMC Plant Biology* 28(4):12-16. doi: 10.1186/1471-2229-4-12.
- Tomlekova, N., Spasova-Apostolova, V., Pantchev, I., Sarsu, F. (2021). Mutation associated with orange fruit color increases concentrations of β -carotene in a sweet pepper variety (*Capsicum annuum* L.). *Foods* 2021 10(6): 1225. doi: 10.3390/foods10061225.
- Wang, W., Wang, K., Chen, X., Prodanovic, S., Li, X., Ye, X., Yan, Y. (2018). Molecular Characterization and Phylogenetic Analysis of One Omega-Gliadin Gene from *Aegilops speltoides* L. *Genetika* 50(2): 503-517. doi: 10.2298/GENSR1802503W
- Wang, R., Zhang, J., Luo, F., Liu, N., Prodanovic, S., Yan, Y. (2021). Cloning and Molecular Characterization of Two Novel Lmw-M Type Glutenin Genes from *Triticum spelta* L. *Genetika* 53(1):141-155. doi: 10.2298/GENSR2101141W
- Wu, J., Lu, X., Yu, Z., Han, C., Li, X., Prodanović, S., Yan, Y. (2017). Effects of Glu-1 and Glu-3 Allelic Variations on wheat glutenin macropolymer (Gmp) content as revealed by size-exclusion high performance liquid chromatography (Se-Hplc). *Genetika* 49(2): 677-691. doi: 10.2298/GENSR1702677W

CIP - Каталогизација у публикацији

Народна библиотека Србије, Београд

631.52(082)

606:63(082)

НАЦИОНАЛНИ научни скуп са међународним учешћем Биотехнологија и савремени приступ у гајењу и оплемењивању биља (2023 ; Смедеревска Паланка)

Zbornik radova / Nacionalni naučni skup sa međunarodnim učešćem Biotehnologija i savremeni pristup u gajenju i oplemenjivanju bilja, Smederevska Palanka, 2. novembar 2023. ; [urednici Milan Ugrinović, Vladimir Perišić]. - Smederevska Palanka : Institut za povrtarstvo, 2023 (Starčevo : Art Vision). - 277 str. : ilustr. ; 24 cm

Tiraž 60. - Str. 12: Predgovor / Milan Ugrinović, Kristina Luković. - Bibliografija uz svaki rad. - Abstracts.

ISBN 978-86-89177-06-0

а) Биљке -- Оплемењивање -- Зборници б) Биотехнологија -- Зборници

COBISS.SR-ID 128067593