Utjecaj razine poliploidije na akumulaciju cinka u zrno roda Triticum

Kesedžić, Marko

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josip Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:436584

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE J.J. STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Marko Kesedžić, apsolvent

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

UTJECAJ RAZINE POLIPLOIDIJE NA AKUMULACIJU CINKA U ZRNO VRSTA RODA *TRITICUM*

Diplomski rad

Osijek, 2015.

SVEUČILIŠTE J.J. STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Marko Kesedžić, apsolvent

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

UTJECAJ RAZINE POLIPLOIDIJE NA AKUMULACIJU CINKA U ZRNO VRSTA RODA *TRITICUM*

Diplomski rad

Osijek, 2015.

SVEUČILIŠTE J.J. STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Marko Kesedžić, apsolvent

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

UTJECAJ RAZINE POLIPLOIDIJE NA AKUMULACIJU CINKA U ZRNO VRSTA RODA *TRITICUM*

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. doc.dr.sc. Andrijana Rebekić, predsjednik
2. doc.dr.sc. Sonja Petrović, mentor
3. prof.dr.sc. Sonja Marić, član

Osijek, 2015.

Dio istraživanje u ovom diplomskom radu obavljeno je u sklopu Uspostavno istraživačkog projekta br. 2000 financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost.

SADRŽAJ

1. Uvod ... 1
2. Pregled literature ... 3
2.1. Razvoj poliploidije ... 3
2.2. Cink – tlo, biljka i čovjek ... 5
2.3. Mehanizam usvajanja i akumulacije cinka u zrno ... 6
3. Materijal i metode ... 11
3.1. Biljni materijal ... 11
4. Metode rada ... 13
4.1. Poljski pokus ... 13
4.2. Priprema uzoraka i laboratorijska istraživanja ... 13
4.2.1. Čišćenje i mljevenje uzoraka ... 14
4.2.2. Analiza biljnog materijala ... 14
4.2.3. Razaranje biljnog materijala ... 15
4.2.4. Određivanje mikroelemenata i tehnika mjerenja na ICP – OES – u ... 16
4.2.5. Statistička obrada podataka ... 18
5. Rezultati ... 19
6. Rasprava ... 22
7. Zaključak ... 25
8. Popis literature ... 26
9. Sažetak ... 30
10. Summary ... 31
11. Popis tablica ... 32
12. Popis slika ... 33
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA ... 36
BASIC DOCUMENTATION CARD ... 37

1. Uvod

Žitarice imaju glavnu ulogu u ljudskoj ishrani. Pšenica, riža i kukuruz su tri glavne žitarice, najzastupljenije na svjetskim oranicama u odnosu na ostale žitarice. Prema podacima FAO-a (FAOSTAT, 2013.) pšenica je 2013. godine u svijetu uzgajana na oko 218 milijuna hektara, riža na oko 164 milijuna hektara i kukuruz na oko 184 milijuna hektara. Pšenica je najznačajniji ratarski usjev, najrasprostranjenija kultura na svjetskim oranicama, te naša najvažnija krušarica. Prema Statističkom ljetopisu iz 2014. (http://www.dzs.hr/) godine u Republici Hrvatskoj površine pod pšenicom su iznosile 204 506 ha s prosječnim prinosom od 4,9 t/ha. Najznačajnije pšenice iz roda *Triticum* koje imaju ogromno gospodarsko značenje su: *Triticum aestivum ssp. vulgare* – meka pšenica i *Triticum durum* – tvrda pšenica (Martinčić i Kozumplik, 1996.). Jedan od kriterija podjele pšenice je razina poliploidije. Razina poliploidije predstavlja broj kromosoma pšenice prema kojemu se pšenice dijele u tri skupine i to: diploidna (2n = 14), tetraploidna (2n (4x) = 28) i heksaplodina (2n (6x) = 42) (Martinčić i Kozumplik, 1996.).

Pšenica je izuzetno značajna u mlinarstvu, prerađivačko-prehrambenoj industriji, farmaceutskoj industriji i proizvodnji stočne hrane. Iz toga razloga oplemenjivanje pšenice ide u smjeru povećanja prinosa i poboljšanja kvalitete zrna. Kvaliteta zrna uključuje nekoliko svojstava i to: fizičke karakteristike zrna (hektolitarska masa, masa 1000 zrna, krupnoća i oblik zrna i dr.), zdravstveno stanje i svježina zrna, kemijski sastav zrna i dr.

Sadržaj cinka (Zn) u zrnu pšenice je jedno od svojstava kvalitete. Cink je mikronutrijent potreban i biljkama i čovjeku za očuvanje zdravlja. Sa stajališta biljke cink je značajan zato što sudjeluje u formiranju klorofila. Nedostatak cinka izaziva klorozu tkiva biljke te skraćenje internodija. Osim toga utječe i na različite enzime, formiranje polena te na kvalitetu ploda (Marschner, 1995.). Sa stajališta čovjeka deficit cinka zahvaća ukupno 17,3% stanovništva. Nedostatak ovoga esencijalnog mikronutrijenta može izazvati kod čovjeka niz kožnih i respiratornih bolesti (Welch, 2002.).

Biofortifikacija je uzgoj usjeva povećane prehrambene vrijednosti. Dakle, biofortifikacija je usmjerena na uzgoj kultivara (sorti ili hibrida) čiji merkantilni dio sadrži povećanu koncentraciju mikroelemenata (željezo, cink, selen i dr.), vitamina, provitamina i dr. koji su neophodni u ljudskom tijelu, što je naročito važno za prehranu ljudi i životinja u pojedinim ruralnim i siromašnim zemljama. Razlikuje se agronomska biofortifikacija (gnojidbom

određenim mikroelementom) i genetska biofortifikacija (stvaranje sorata s povećanom akumulacijom nekog elementa) (Cakmak, 2008.).

Cilj istraživanja

Cilj ovoga istraživanja bio je utvrditi utjecaj razine poliploidije na akumulaciju cinka u zrno pšenice.

2. Pregled literature

2.1. Razvoj poliploidije

Kultivirana pšenica i njezini divlji srodnici pripadaju rodu *Triticum* L., dio porodice *Triticeae* kojemu pripada oko 300 vrsta. Pšenica iz roda *Triticum* ima samo šest vrsta kojemu pripadaju i bliskoistočni divlji srodnici. Vrste su podijeljene u tri skupine i to na: diploidne, tetraploidne i heksaploidne (Tablica 1a i 1b). Vrste koje pripadaju rodu *Triticum* su: *Triticum monococcum* (AA genom), *Triticum urartu* (AA genom), *Triticum turgidum* (AABB genom), *Triticum timopheevii* (AAGG genom), *Triticum aestivum* (AABBDD genom) i *Triticum zhukovskyi* (AAAAGG genom) (Gaut, 2002.).

Tablica 1a. Nomenklatura divlje i kultivirane *Triticum* pšenice (Matsuoka, 2011.)

Odjeljak	Vrste i podvrste	Genomska konstitucija	Uobičajeno ime
Monococcon	*Triticum monococcum* L.	AA	
	subsp. *aegilopoides* (Link) Thell.		Divlji jednozrnac
	subsp. *Monococcum*		Kultivirani jednozrnac
	Triticum urartu Tumanian ex Gandilyan	AA	
Dicoccoidea	*Triticum turgidum* L.	AABB	
	subsp. *dicoccoides* (Körn. ex Asch. & Graebn.)		Divlji dvozrnac
	subsp. *dicoccon* (Schrank) Thell.		Kultivirani dvozrnac
	subsp. *durum* (Desf.) Husn		Durum ili makaron pšenica
	subsp. *polonicum* (L.) Thell		Poljska pšenica
	subsp. *turanicum* (Jakubz.) Á.Löve & D.Löve		Krosan pšenica
	subsp. *Turgidum*		Rivet pšenica
	subsp. *carthlicum* (Nevski) Á.Löve & D.Löve		Perzijska pšenica
	subsp. *paleocolchicum* (Menabde) Á.Löve & D.Löve		Gruzijska pšenica
	Triticum timopheevii (Zhuk.) Zhuk.	AAGG	
	subsp. *armeniacum* (Jakubz.) van Slageren		Divlji timopheevii

Tablica 1b. Nomenklatura divlje i kultivirane *Triticum* pšenice (Matsuoka, 2011.)

Odjeljak	Vrste i podvrste	Genomska konstitucija	Uobičajeno ime
	subsp. *timopheevii*		Kultivirani timopheevii
Triticum	*Triticum aestivum* L	AABBDD	Obična pšenica
	subsp. *aestivum*		Krušna pšenica
	subsp. *compactum* (Host) MacKey		„Club“ pšenica
	subsp. *sphaerococcum* (Percival) MacKey		Indijska patuljasta pšenica
	subsp. *macha* (Dekapr. & Manabde) MacKey		
	subsp. *spelta* (L.) Thell.		Pir
	Triticum zhukovskyi Menabde & Ericz	AAAAGG	

Glavni razlog diverzifikaciji vrsta roda *Triticum* leži u alopolipoidiji hibridizacijom s *Aegilops* vrstama. Tetraploidne vrste razvijaju se nakon udaljavanja vrsta diploidne pšenice te hibridizacijom *T. urartu* s divljim srodnicima *Aegilops speltoides* s genomom SS (Tsunewaki, 2009.). Daljnja diverzifikacija događa se alopolipodijom *T. turgidum* i *T. timopheevii* kroz više tisuća godina. U tom su se razdoblju uspjele pripitomiti i kultivirati diploidne i tetraploidne vrste. Heksaploidna pšenica nastaje hibridizacijom tetraplodinih vrsta s diploidnim *Aegilops* i *Triticum* vrstama. *T. aestivum (*AABBDD genom) smatra se da je nastala hibridizacijom *T. turgidum* s divljim vrstama pšenice *Aegilops tauschii.* Dok je druga heksaploidna vrsta *T. zhukovskyi* nastala hibridizacijom *T. timopheevii* s kultiviranim *T. monococcumom* (Dvorak i sur., 1993.; Kihara, 1966.; Kilian i sur., 2007a).

Odvojeno podrijetlo tetraploidnih vrsta pšenice najviše je doprinijelo evoluciji roda *Triticum*. Najrasprostranjenija i najznačajnija krušna pšenica je *T. aestivum* L. *subsp. aestivum*. Na njoj su zasnovana sva istraživanja i svo znanje o poliploidiji. *T. timopheevii je* manje rasprostranjena zbog zasebne evolucije (Matsuoka, 2011.).

2.2. Cink – tlo, biljka i čovjek

Nedostatak cinka najčešće se javlja na tlima alkalne reakcije (vapnenim tlima), a manje na tlima neutralne ili kisele reakcije. Isto tako nedostatak cinka javlja se kao posljedica erozije površinskog sloja tla. Nedostatku cinka pogoduje hladno i kišovito vrijeme. Pogodnu reakciju na gnojidbu cinkom imaju tla s niskom količinom organske tvari ili tla s viškom vapna. Cink se u tlu pojavljuje u tri frakcije: 1. Zn topljiv u vodi (uključujući Zn^{2+}), 2. adsorbirani i izmjenjivi cink u koloidnoj frakciji (povezan s česticama gline i humusom) i 3. netopivi cinkovi kompleksi i minerali (Barber, 1995.).

Brojni činitelji utječu na distribuciju cinka u tlu, a najznačajniji među njima su: tip tla, vlaga tla, sadržaj i vrsta minerala i gline, sadržaj organske tvari, pH vrijednost tla i oborine. Tlo sadrži više od 90% biljkama nedostupnog cinka. Tlo može sadržavati od 2 do 25 ppm izmjenjivog i organskog cinka. Koncentracija cinka iznad 100 ppm toksična je za veliki broj poljoprivrednih kultura (Schulte, 1992.). Prema Pravilniku o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (Narodne novine 32/2010) (na temelju Zakona o poljoprivrednom zemljištu "Narodne novine", br. 152/08) kao onečišćujuće tvari i potencijalno toksični elementi navode se teški metali među kojima je i Zn (tablica 2.).

Tablica 2. Maksimalno dopuštena količina Zn u poljoprivrednim tlima Republike Hrvatske (NN 32/2010)

Vrsta tla	Zn (mg kg^{-1})
Pjeskovito tlo	0 – 60
Praškasto – ilovasto tlo	60 – 150
Glinovito tlo	150 – 200

U istraživanju Lončarića i sur. (2010.) u kontinentalnoj Hrvatskoj prosječni sadržaj, na temelju 60 uzoraka, ukupnog cinka ZN_{AR} iznosi 70 mg kg^{-1}, a od toga samo 2,4 mg kg^{-1} raspoloživog Zn_{EDTA}.

Cink je jedan od esencijalnih mikoelemenata za biljku. Biljka koristi cink za formiranje klorofila, pa je zbog toga u tom procesu povezan s željezom i manganom. Simptomi nedostatka cinka na ratarskim kulturama očituje se u klorozi tkiva i kraćim internodijima što daje biljci zakržljali izgled. Cink također utječe na metabolizam biljaka jer se nalazi u sastavu mnogih enzima, također utječe i na aktivnost hidrogenaze i karbonske anhidraze, stabilizaciju

ribosomalnih frakcija i sintezu citokroma. Enzimi koji se aktiviraju cinkom uključeni su u mnoge bitne procese u biljci kao što je sinteza proteina i formiranje polena (Marschner, 1995.).

Nedostatak cinka negativno utječe i na kvalitetu ploda te osjetljivost na različite abiotske i biotske čimbenike zbog utjecaja na kapacitet usvajanja vode (temperaturu, svjetlost, sušu i gljivične bolesti). U interakciji s fosfolipidima doprinosi održavanju stanične membrane (Cakmak, 2010.; Hafeez i sur., 2013.)

U regijama gdje se ljudska prehrana pretežno sastoji od žitarica dolazi do nedostatka mikronutrijenata (Wessells i Brown, 2012.). Procjenjuje se da je 17,3% svjetske populacije u opasnosti zbog nedovoljnog unosa cinka, te da godišnje 433 000 djece mlađe od pet godina umire zbog nedostatka Zn (WHO, 2009.).

Nedostatak cinka dovodi do gubitka apetita, smanjenja osjećaja mirisa i okusa, sporog zacjeljivanja rana, te pojave čireva. Optimalan unos cinka za čovjeka je 15 mg dnevno. Ipak prevelike koncentracije mogu uzrokovati niz zdravstvenih problema poput anemije, iritacije kože, mučnine, oštetiti gušteraču, poremetiti metabolizam proteina, te uzrokovati arteriosklerozu. Nerođena djeca i novorođenčad mogu biti izloženi cinku putem majčine krvi ili mlijeka. Okolišna izloženost cinkovom kloridu dovodi do respiratornih problema (Zimmermann, 2001.; Welch, 2002.).

2.3. Mehanizam usvajanja i akumulacije cinka u zrno

Usvajanje cinka u porodici *Poaceae* prvo je objašnjeno kod kukuruza. Korijen kukuruza usvaja cink pomoću Zn-fitosiderofora. Fitosiderofori pomažu bržem prelasku metala u pristupačnije oblike (kod cinka oblik Zn^{2+}) poboljšanjem mikroflore (Wiren i sur., 1996.). Također, ulogu pri usvajanju imaju i membranski proteini IRT1. U slučaju da korijen usvoji previše cinka, višak cinka se pohranjuje u vakuole. Ostali bitni mehanizmi zaštite od toksičnih koncentracija su: vezivanje metala s fitokelatima u citosolu korijena i izlučivanje iz korijena (Eide i sur., 1996.; Chen i sur., 2008.). Koeficijentom usvajanja (PUF – plant uptake factor) opisuje se unos metala iz tla u biljku, tj. predstavlja odnos koncentracije elementa u biljnom tkivu i tlu (Zhang i sur., 2010.).

Nakon ulaska u korijen, cink difuzijom prelazi u ksilem parenhimskih stanica gdje se veže s ligandima odakle aktivnim transportom izlazi iz simplasta i ulaze u „mrtvi“ ksilem.

Translokacija iz korijena u nadzemne dijelove najviše ovisi o učinkovitosti punjenja ksilema, stupnju pristupačnosti i mobilizacije metala sekvestriranih u korijenu, učinkovitosti radijalnog gibanja iz simplasta i prolasku kroz endodermis i učinkovitosti kretanja metala ksilemom (Palmgren i sur., 2008., Rebekić i Lončarić, 2014.).

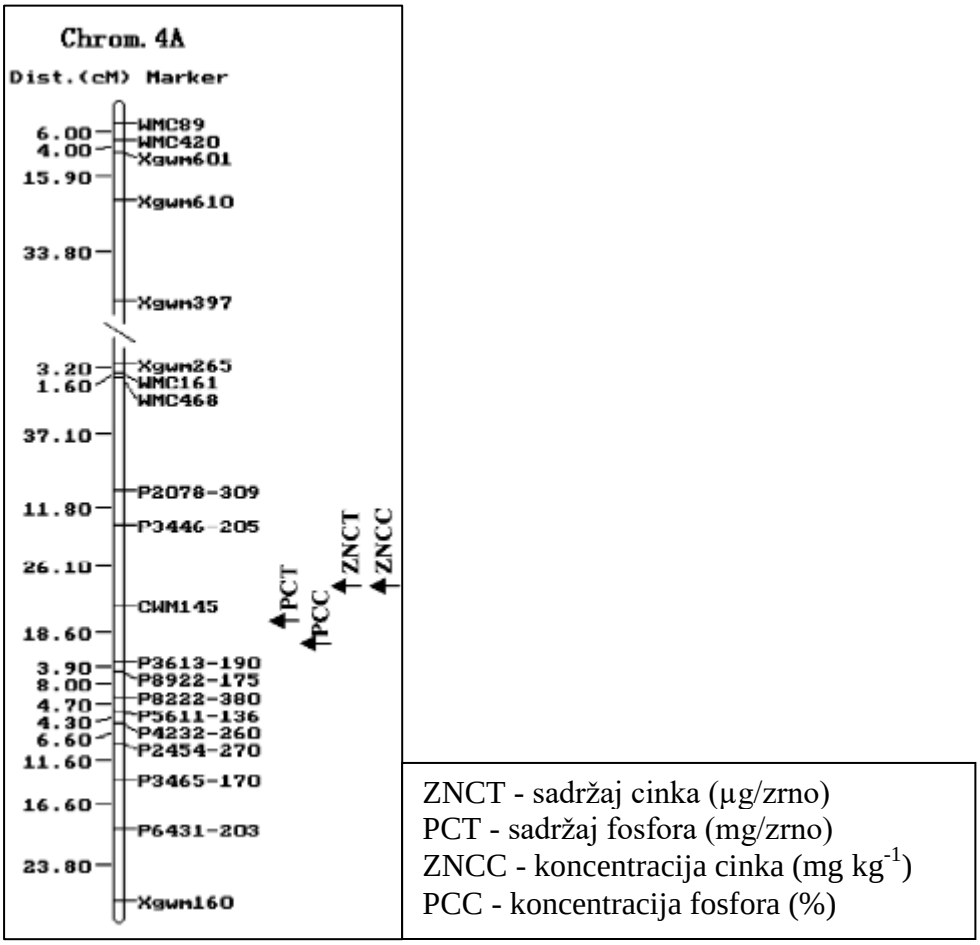
Za razliku od riže gdje se značajan dio cinka usvaja iz tla nakon cvatnje, za akumulaciju cinka u zrno pšenice najznačajniju ulogu ima list zastavičar. Iz lista zastavičara cink se translocira u zrno (Stomph i sur., 2009.).

O genetskom povećanju koncentracije cinka u zrnu, te o povećanju bioiskoristivosti cinka iz zrna govori rad Cakmak i sur. (2004.). Genetski izvori povećanja koncentracije cinka su divlji srodnici pšenice. Velika varijabilnost i visoka koncentracija cinka nađena je u. Prema Cakmak i sur. (2004.) koncentracija cinka u zrnu 111 genotipova *T. turgidum ssp. dicoccoides* uzgajanih u plasteniku kretala između 14 do 190 mg kg^{-1} suhe tvari, dok je po zrnu koncentracija bila i do 7µg. Određivanje koncentracije cinka u zrnu različitih vrsta *dicoccoides* pokazalo je da su za povećanu koncentraciju cinka odgovorni geni na kromosomima 6A, 6B i 5B.

Nadalje, istraživanja pokazuju da postoji velika varijacija u koncentraciji Zn u zrnu divljih srodnika moderne pšenice te da njihova koncentracija može premašiti one u modernim elitnim kultivarima. Prirodnu varijabilnost moguće je iskoristiti u biofortifikaciji pšenice s Fe i Zn, kao što je postignuto pomoću transkripcijskog faktora NAB-B1 (Uauy i sur., 2006.) čija je prvotna uloga bila povećanje sadržaja bjelančevina divlje emmer pšenice (*Triticum turgidum ssp. dicoccoides*). Prisutnost NAB-B1 povećava koncentraciju Fe i Zn u zrnu za 18 odnosno 12%. Ovaj gen se široko koristi u oplemenjivačkim programima diljem svijeta (Borrill i sur., 2014.).

Ostale gene odgovorne za koncentraciju važnih mikro i makronutrijenata opisuje istraživanje Shi i sur. (2008.). Istraživanjem je utvrđeno da su Zn i P u zrnu ovisni o poligenima. Četiri QTL-a (eng. Quantitative trait locus) su detektirana za koncentraciju cinka, a za sadržaj cinka sedam QTL-ova. Sva četiri QTL-a za koncentraciju cinka kolocirana su s QTL-ovima za sadržaj cinka, što pokazuje mogućnost poboljšanja zrna u smislu usporednog povećanja koncentracije i sadržaja cinka. Za koncentraciju i sadržaj fosfora detektirano je četiri odnosno šest QTL-a. Dva QTL-a za koncentraciju cinka u zrnu nalaze se na kromosomima 4A (slika 1) i 4D gdje je u kolokaciji s QTL-ovima za koncentraciju fosfora. Četiri QTL-a za sadržaj cinka u zrnu na kromosomima 2D, 3A i 4A povezani su sa QTL-ovima za sadržaj fosfora, što

pokazuje pozitivnu korelaciju između cinka i fosfora u zrnu. Upravo zbog jake korelacije između tih osobina autori savjetuju da se s oprezom oplemenjuje na koncentraciju cinka u zrnu jer može doći do povećanja koncentracije fosfora, što može dovesti do smanjenje pristupačnosti cinka.



Slika 1. Prikaz QTL-ova na kromosomu 4A (Izvor: Shi i sur., 2008.)

Prema Cakmak (2008.) razlikuje se dvije vrste biofortifikacije i to agronomska i genetska. Novorazvijeni kultivari nisu u potpunosti postigli svoj potencijal u pogledu usvajanja dovoljne količine cinka iz tla. Količina cinka koju će biljka usvojiti ovisi o veličini biljke i samoj koncentraciji cinka u tlu. Agronomska biofortifikacija predstavlja brzo rješenje toga problema. Folijarnim dodavanjem NPK gnojiva obogaćenog cinkom uspješno se povećava usvajanje i akumulacija cinka. Ciljana koncentracija koju se želi postići biofortifikacijom je 40-60 mg kg^{-1} (Gao i sur. 2011.).

U istraživanju Gao i Granta (2012.) ispitivao se utjecaj različitih agroekoloških čimbenika na koncentraciju cinka i prinos durum pšenice te interakcija cinka i kadmija. Čimbenici koje je istraživanje obuhvaćalo su: obrada tla, plodored i gnojidba fosforom. Reducirana obrada u odnosu na konvencionalnu dala je veći prinos i veću koncentraciju cinka. Utjecaj predkulture nije imao gotovo nikakav utjecaj na koncentraciju cinka, dok je gnojidba fosforom utjecala na smanjenje koncentracije cinka u zrnu. U istraživanju nije utvrđena korelacija između cinka i kadmija, ali je Zn u pozitivnoj korelaciji s ostalim mikroelementima poput: Fe, Mn, Ca i Mg.

U istraživanju Eđed (2011.) utvrđena je sortna specifičnost pšenice s obzirom na akumulaciju kadmija, cinka i željeza u zrno na tlu kontaminiranom kadmijem i nekontaminiranom tlu, te varijabilnost u iznošenju cinka masom suhe tvari, dok kontaminacija tla kadmijem nije značajno utjecala na akumulaciju cinka u zrno. U istraživanje je bilo uključeno 52 sorte ozime pšenice. Prosjek koncentracije cinka u zrnu iznosio je 35,1 mg kg^{-1}. U drugoj godini u istraživanje je bilo uključeno deset sorata pšenice te je utvrđena prosječna koncentracija Zn u zrnu od 26,1 mg kg^{-1}.

Palmgren i sur. (2008.) u istraživanju na krušnoj pšenici, durum pšenici i ječmu predlažu dva sustava biofortifikacije žitarica cinkom: barijera korijen - izdanak i proces „punjenja“ zrna. U opisivanju problema i mogućih rješenja autori dolaze do zaključka da biljke akumuliraju višak cinka u vakuolama korijena. Za akumulaciju koncentracije cinka većeg od fizioloških potreba biljke potrebno je ojačati korijen. Cink translociran iz lišća najviše pridonosi ukupnoj količini cinka u zrnu žitarica. U žitarica ksilem u bazi zrna svake žitarica je diskontinuiran, pa iz toga razloga cink mora biti prenesen iz ksilema u floem prije ulaska u zrno. Također navode da aleuron i embrionalno tkivo (mekinje) imaju veći koncentraciju cinka nego endosperm.

Uspoređujući razlike između riže i ostalih žitarica, Stomph i sur. (2009.) dovode u pitanje tkiva kao fiziološke barijere. Koncentracija mekinja kod riže je 50,3 ppm, a endosperma 8,6 ppm, dok kod pšenice koncetracija mekinja je 47,1 ppm, a endosperma 8,3 ppm. Endosperm se najvećim dijelom sastoji iz škroba, koji nije aktivno uključen u metabolizam zrna za određivanje akumulacije minerala. Stoga analizu fiziološke regulacije koncentracija minerala treba vršiti na temelju suhe tvari bez škroba, a ne ukupne suhe tvari. Što dovodi do zaključka da smanjenje škrobnih čestica dovodi do povećanja kapaciteta za cink.

Osim toga, okolina može imati značajan utjecaj na koncentraciju cinka u zrnu i postoji značajna interakcija između genotipa i okoliša (Cakmak i sur., 2004.).

Divlje emmer pšenice pokazuju veliku genetsku varijabilnost koncentracije cinka. Ključni korak kontrole koncentracije cinka je translokacija iz lišća u zrno. Nedavne studije su pokazale da GPC-B1 (sadržaj proteina zrna-B1) lokus divlje emmer pšenice utječe na sadržaj proteina, željeza i cinka u zrnu. Ovo mjesto kodira NAC transkripcijski faktor (NAM-B1) koji ubrzava starenje i povećava translokaciju nutrijenata (N, Fe i Zn) iz lišća za razvoj zrna. Genom pšenice sadrži tri NAM gena, ali krušna pšenica nosi alel nefunkcionalne NAM-B1, što uzrokuje usporeno ili odgođeno starenje lista što znači nižu koncentraciju proteina, željeza i cinka u usporedbi s divljim emmer pšenicama. Trenutno se provodi introgresija lokusa GPC-B1 u visokorodnim sortama pšenice (White i sur., 2009., Cakmak, 2008., Distelfeld, 2007.).

Novija istraživanja i eksperimenti koriste se znanjem o sekvencama, mutantima i transgeničnim metodama poboljšanja biljke. RNA sekvence mogu poslužiti za identificiranje različite ekspresije gena u linijama sa smanjenom ekspresijom NAM gena. Dostupnost informacija o mutantima omogućit će bržu karakterizaciju funkcije gena, te time ukazati na značajne alele za buduće oplemenjivanje pšenice. Korištenje transgeničnih metoda je u prošlosti bilo otežano, ali se konstanto poboljšava tako da danas postoji široka paleta promotora za ciljanu ekspresiju transgena u tkivu ili određenoj fazi razvoja (Borrill i sur., 2014.).

3. Materijal i metode

3.1. Biljni materijal

Istraživanje je provedeno na 20 kultivara pšenice. Kultivari durum i heksaploidne pšenice priznati su između 1931. i 2006. godine. Kultivari su odabrani na temelju godine priznavanja, rodoslovlja, zastupljenosti u proizvodnji i području uzgoja. Pri odabiru kultivara vodilo se računa da u istraživanje budu uključeni kultivari iz sva četiri oplemenjivačka centra u Republici Hrvatskoj i to: Poljoprivredni institut Osijek, Bc Institutu (Zagreb), Jošt sjeme – istraživanja d.o.o. (Križevci) i Agrigenetics d.o.o. (Osijek) (Tablica 3a i 3b). Od 10 stranih kultivara četiri su austrijska, tri mađarska, dva talijanska, te jedan francuski. Osim toga u istraživanje je uključeno i pet divljih srodnika pšenice: *T. compactum, T. dicoccoides, T. monococcum, T. spelta* i *T. spharecoccum* (tablica 4.).

Tablica 3a. Rodoslovlje, godina priznavanja, podrijetlo i oplemenjivačka kuća kultivara pšenice

Br.	Kultivar	Rodoslovlje	Godina	Podrijetlo	Oplemenjvačka kuća
1.	Bankuti 1205	Marquis/Bankuti-5	1931.	HUN	Plant Breeding Station Nana
2.	Leonardo	Baudi//San Pastore/Damiano	1955.	ITA	Institute of Genetics and Agricultural Experimentation N. Strampelli
3.	Tena	Libellula/Bezostaya - 1	1973.	HRV	Poljoprivredni institut Osijek
4.	Brutus	Probstdorfer-extrem/Agron	1993.	AUT	Saatbau Linz
5.	Colloseo	*	1995.	ITA	Eurogen srl
6.	Nefer	*	1996.	FRA	Verneuil Recherche Verneuil l'Etang France
*** podatci nisu dostupni**					

Tablica 3b. Rodoslovlje, godina priznavanja, podrijetlo i oplemenjivačka kuća kultivara pšenice

Br.	Kultivar	Rodoslovlje	Godina	Podrijetlo	Oplemenjvačka kuća
7.	Primadur	Rodur/(DF-961-83)TR.DR-3152-91-1	1997.	HRV	BC Institut
8.	Koleda	NE – 7060 – 76 – Y – 335/VG - 19	1998.	HRV	Jošt sjeme
9.	MV-Prizma	Fatima/MV-8	2000.	HUN	Agricultural Institute MTA – ATK
10.	Prima	Sana/Gala	2001.	HRV	BC Institut
11.	Auradur	*	2004.	AUT	Saatzucht Donau
12.	MV Kemence	F – 885 – K – 4 – I/MV - Magdalena	2004.	HUN	Agricultural Institute MTA – ATK
13.	Coradur	*	2006.	AUT	Saatzucht Donau
14.	Atena	*	*	HRV	Agrigenetics d.o.o.
15.	Inverdur	*	*	*	*
*** podatci nisu dostupni**					

Tablica 4. Divlji srodnici pšenice i njihova razina poliploidije

Broj	Divlji srodnik	Razina poliploidije
1.	*T. compactum*	Heksaploidna (2n=42)
2.	*T. dicoccoides*	Tetraploidna (2n=28)
3.	*T. monococcum*	Diploidna (2n = 14)
4.	*T. spelta*	Heksaploidna (2n=42)
5.	*T. sphaerococcum*	Heksaploidna (2n=42)

4. Metode rada

4.1. Poljski pokus

Svi kultivari pšenice odabrani za istraživanje postavljene su u poljski pokus u sklopu Uspostavno istraživačkog projekta br. 2000 (PHENOWHEAT) financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost. Tijekom vegetacijske godine 2013./2014. pokus je postavljen na lokaciji Nemetin kod Osijeka. Provedena je standardna agrotehnika za pšenicu. Pokus je zasijan 15. listopada 2013. godine. Svaka sorta posijana je na osnovnu parcelu dužine 5 m, širine 1,25 m, s površinom od 6,25 m^2 (slika 2). Razmak između redova bio je 12,5 cm. Žetva je obavljena 10.7.2014. godine ručno, slučajnim odabirom 50 klasova od svakog kultivara.



Slika 2. Poljski pokus u punoj zriobi pšenice (foto original: M. Kesedžić)

4.2. Priprema uzoraka i laboratorijska istraživanja

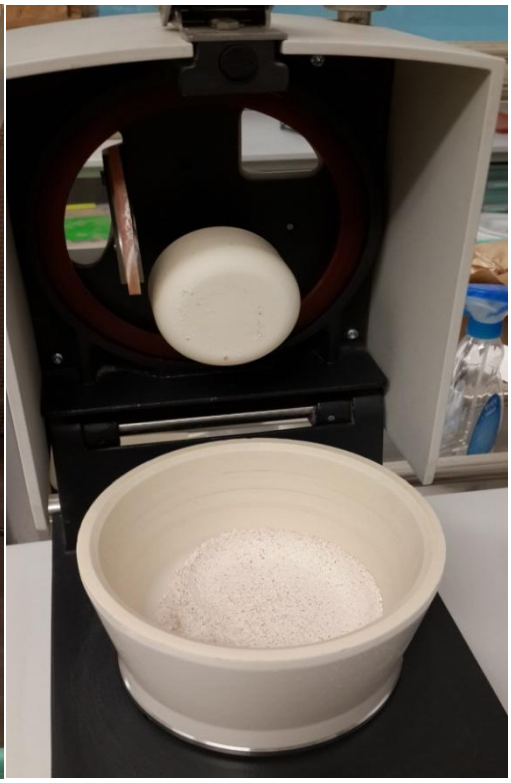
Laboratorijski pokus je proveden u suradnji sa Zavodom za agroekologiju u laboratoriju za ishranu bilja i fiziologiju bilja. Tijekom laboratorijskog pokusa provedeno je čišćenje i mljevenje uzoraka, razaranje mokrom metodom, te utvrđivanje koncentracije elemenata ICP – OES (eng. Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometer) metodom.

4.2.1. Čišćenje i mljevenje uzoraka

Čišćenje uzoraka je obavljeno ručno da bi se zrno potpuno odvojilo od pljevica. Za mljevenje u brašno korišten je mlin Retsch RM200 (slika 3a i 3b.). Budući da je cilj ovoga istraživanja bilo utvrđivanje koncentracije cinka u uzorcima, korišteni su posebni gumeni tučci, jer bi korištenjem metalnih noževa moglo doći do povećanja koncentracije metala u uzorcima. Svaki uzorak je mljeven 8 minuta.



Slika 3a. Mlin Retsch RM200
(foto original: M. Kesedžić)



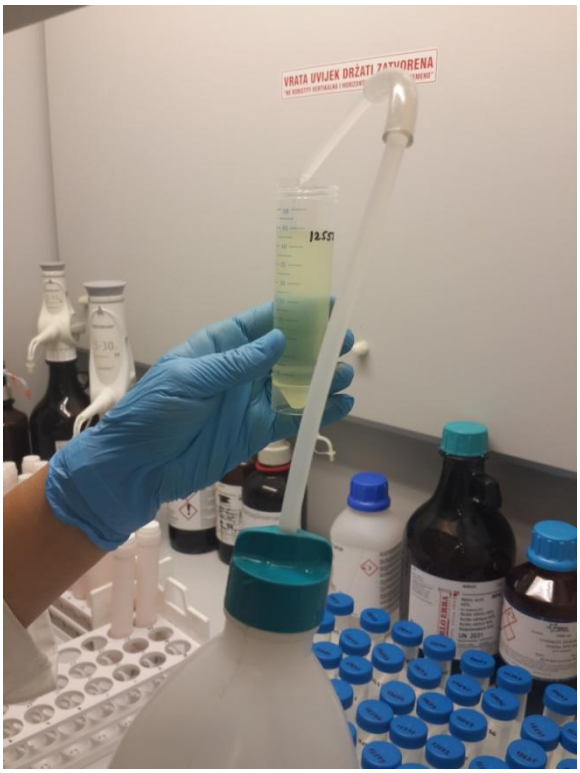
Slika 3b. Mljevenje uzoraka
(foto original: M. Kesedžić)

4.2.2. Analiza biljnog materijala

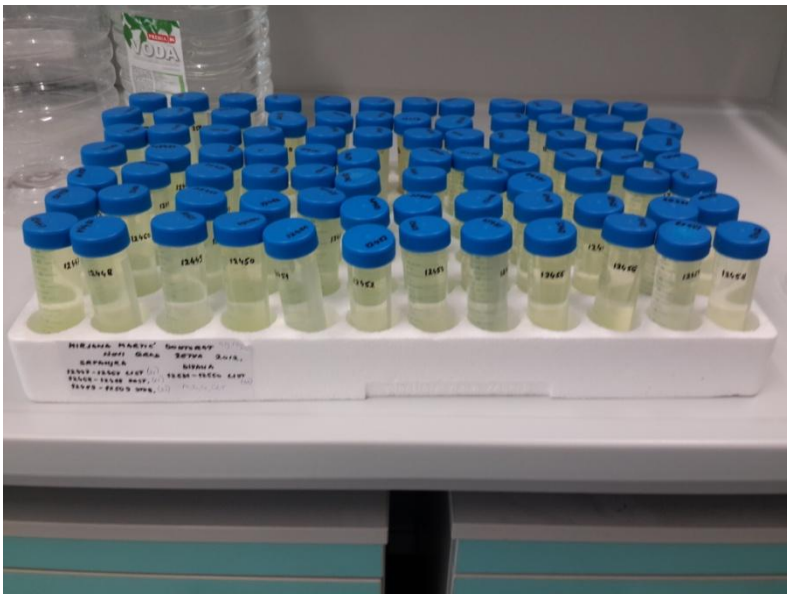
Kemijska analiza mineralnog dijela biljne tvari sastoji se iz pripreme osnovne otopine uzorka (oksidacijom biljne tvari razaranjem ili spaljivanjem) i određivanja koncentracije elemenata u osnovnoj otopini. Zbog različitih koncentracija posebno se priprema osnovna otopina za analizu makroelemenata, a posebno za mikroelemente.

4.2.3. Razaranje biljnog materijala

Razaranje biljnog materijala smjesom HNO_3 i H_2O_2 daje najbrže, najsigurnije i najpreciznije analitičke rezultate s točnošću većom od 5% za determinaciju teških metala u biljnoj tvari. Koncentracije teških metala dobivene mjerenjem na ICP-OES-u predstavljaju njihov ukupan sadržaj u biljnoj tvari. Uzorci organske tvari razoreni su prema sljedećem postupku: u teflonske kivete odvaže se 1 g suhe biljne tvari, te prelije sa 8-10 mL koncentrirane HNO_3 i 2-4 mL koncentriranog H_2O_2. Kivete se hermetički zatvore i umetnu u za njih predviđeno kružno postolje koje se postavi u mikrovalnu peć. Biljni materijal se razara pod tlakom od 180 psi u trajanju od 20 min. Ohlađeni uzorak se kvantitativno uz ispiranje deioniziranom vodom prelijeva u odmjerne tikvice od 25, 50 ili 100 mL i nadopuni vodom (dH_2O) do oznake.



Slika 4. Dodavanje destilirane vode u otopinu
(foto original: M. Kesedžić)



Slika 5. Paleta s uzorcima
(foto original: M. Kesedžić)

Uzorci koje sadrže visoke postotke organskog materijala (biološki materijal, hrana) proizvode obile količine plinova i zahtijevaju veće temperature razaranja da bi se u potpunosti razorile. Tako da se uzorci bogati ugljikohidratima razaraju na temperaturi od 140˚C, proteinima na 150˚C i mastima na 170˚C.

4.2.4. Određivanje mikroelemenata i tehnika mjerenja na ICP – OES – u

Koncentracije esencijalnih mikroelenenata (Fe, Mn, Zn, Cu) u svim otopinama biljnih uzoraka utvrđene su direktnim mjerenjem apsorpcijskom tehnikom na ICP-OES, proizvođača PerkinElmer (model: Optima 2100 DV) (slika 6).



Slika 6. Optima 2100 DV (foto original: M. Kesedžić)

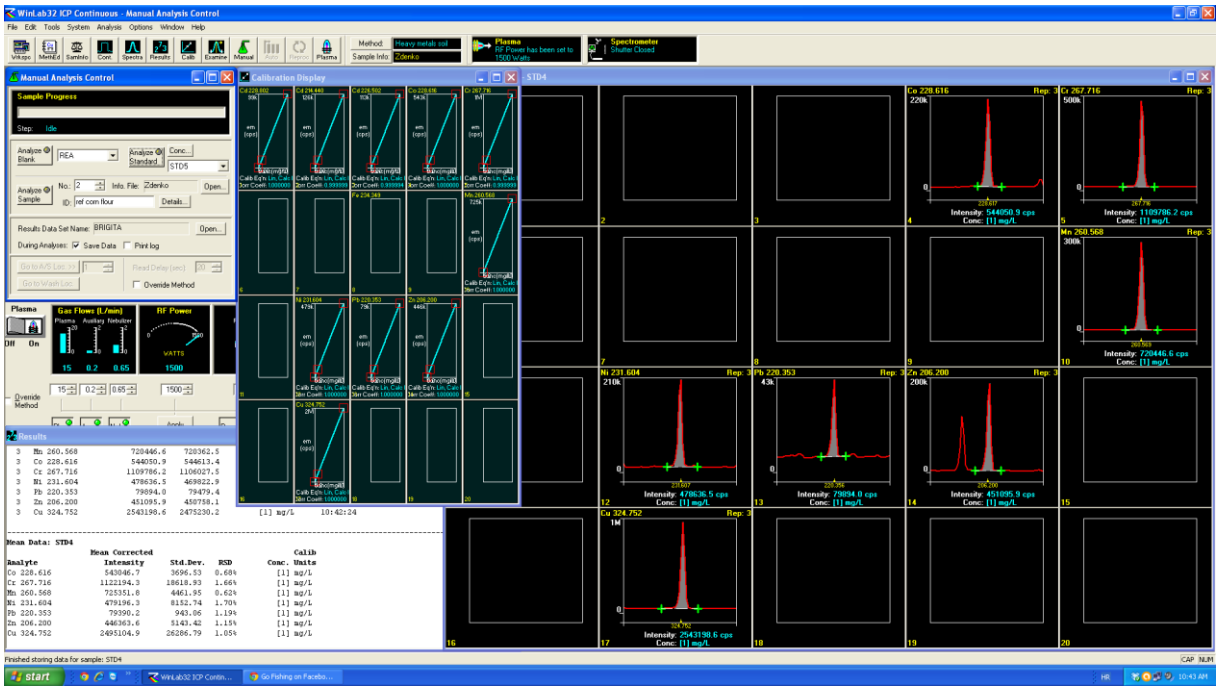
Induktivno spregnuta plazma je struja visoko ioniziranog argona koji prolazi kroz magnetno polje zavojnice. Visoko frekventno magnetno polje ionizira argon, koji je inertni plin i formira se plasma. Plazma razvija temperature od 8000 – 10000 Kelvina što joj omogućuje determinaciju oko 75 elemenata iz periodnog sustava.

Tehnika koju ICP koristi za mjerenje uzoraka je optička emisijska spektrofotometrija (OES) tj. aparat radi na principu emisije. Kada uzorak uvodimo u plazmu koja razvija visoku temperaturu dolazi do pobuđivanja elektrona koji onda prelaze u pobuđeno stanje. Prilikom vraćanja u osnovno stanje dolazi do emitiranja svjetlosti određene valne duljine koja se mjeri na detektoru. Da bi uzorak transportirali u plazmu prvo ga moramo raspršiti, a to postižemo raspršivačima.

Tekući uzorak se pomoću peristaltičke pumpe upumpava u nebulajzer koji otopinu pretvara u aerosol. Sprej komora uklanja velike kapi, a male kapi koje čine svega 1-5% od ukupne otopine nošene strujom nebulajzer plina u ICP Torch odnosno plazma plamenik.

Plinove koje ICP koristi su argon, dušik i komprimirani zrak. Argon nam služi da bi formirali plazmu i očistili sistem od nečistoća prilikom pokretanja aparata dok dušik služi za čišćenje optike. Komprimirani zrak uklanja rep plazme i tako štiti optičke dijelove od uništenja.

Očitavanje rezultata koncentracije Zn u zrnu obavljeno je WinLab 32 ICP Continuos – Manual Analysis Control programom povezanim s gore navedenim ICP - OES uređajem. Na slici 8 je prikazan primjer dobivenog rezultata.



Slika 8. Programski prozor za očitavanje rezultata

(foto orginal: Marko Kesedžić)

4.2.5. Statistička obrada podataka

Prikupljeni podatci o koncentraciji cinka u zrnu statistički su obrađeni, te su izračunate: aritmetička sredina, standardna devijacija i koeficijent varijacije. Aritmetička sredina predstavlja prosjek svih uzoraka. Standardna devijacija je prosječno odstupanje od aritmetičke sredine, dok koeficijent varijacije predstavlja postotni odnos standardne devijacije i aritmetičke sredine.

5. Rezultati

Nakon očitavanja koncentracija cinka u zrnu ispitivanih kultivara na ICP – OES uređaju dobiveni su rezultati. Dobivena koncentracija cinka izražena je u mg kg^{-1}. Koncentracije Zn u zrnu svih ispitivanih kultivara prikazane su u tablici 5. Najnižu koncentraciju Zn imala je heksaploidna pšenica talijanskog kultivara Leonardo (18,75 mg kg^{-1}), dok je najveću koncentraciju imala tetraploidna pšenica Colosseo također talijanskog podrijetla (41,90 mg kg^{-1}).

Tablica 5. Koncentracija Zn (mg kg^{-1}) u zrnu ispitivanih kultivara

Redni broj	Kultivar	Zn (mg kg^{-1})
1.	Atena	30,41
2.	Auradur	19,39
3.	Bankuti – 1205	25,47
4.	Brutus	21,55
5.	Colosseo	41,90
6.	Coradur	20,13
7.	Inverdur	26,09
8.	Koleda	23,45
9.	Leonardo	18,75
10.	MV Kemence	20,08
11.	MV Prizma	21,12
12.	Nefer	30,90
13.	Prima	18,81
14.	Primadur	35,00
15.	Tena	27,27
16.	*T. compactum*	25,47
17.	*T. dicoccoides*	29,03
18.	*T. monococcum*	35,04
19.	*T. spelta*	29,45
20.	*T. sphaerococcum*	39,07

Prosječna koncentracija cinka u uzorku iznosila je 26,62 mg kg^{-1} ± 6,9. Varijabilnost koncentracije cinka (CV%) u uzorku iznosi 25,62%.

Da bi se utvrdio utjecaj poliploidije na koncentraciju Zn u zrnu, uzorak je podijeljen u tri skupine ovisno o razni poliploidije. Prvu skupinu čine heksaplodni kultivari, drugu skupinu čine tetraploidni, a treću diploidni kultivari (tablica 6). treba napomenuti da je samo jedan diploidni kultivar i to *T. monococcum* bio uključen u istraživanje.

Tablica 6. Podjela kultivara pšenice u skupine ovisno o razini poliploidije

Heksaploidni kultivari – Skupina 1	Tetraploidni kultivari – Skupina 2	Diploidini kultivari – Skupina 3
Atena	Auradur	*T. monococcum*
Bankuti – 1205	Colosso	
Brutus	Coradur	
Koleda	Inverdur	
Leonardo	Nefer	
MV Kemence	Primadur	
MV Prizma	*T. dicoccoides*	
Prima		
Tena		
T. compactum		
T. spelta		
T. sphaerococcum		

Aritmetička sredina, standardna devijacija i koeficijent varijacije izračunati su za svaku skupino pojedinačno, te su rezultati prikazani u tablici 7. Uspoređujući minimalne i maksimalne vrijednosti po skupinama može se primijetiti da skupina tetraploidinih pšenica ima nešto veću koncentraciju cinka od skupine heksaploidnih pšenica. U skupini heksaploidnih pšenica najviša koncentracija cinka izmjerena je kod *T. sphaerococcum* (39,07 mg kg^{-1}), a najnižu koncentraciju imao je kultivar Leonardo (18,75 mg kg^{-1}). Prosjek skupine heksaploidnih pšenica iznosi 25,08 ± 5,90 mg kg^{-1}. Koeficijent varijacije iznosi 23,55%. U skupini tetraploidinih pšenica najvišu koncentraciju Zn ima kultivar Colosseo (41,9 mg kg^{-1}), a najnižu Auradur (19,39 mg kg^{-1}). Prosjek koncentracije Zn u zrnu pšenica tetraploidne skupine iznosi 28,92 ± 8,02 mg kg^{-1}. Koeficijent varijacije iznosi 27,72%. Trećoj skupini diploidnih pšenica pripada samo jedan kultivar *T. monococcum* u kojega je utvrđena koncentracija Zn od 35,04 mg kg^{-1}.

Veza između koncentracije cinka u zrnu pšenice i razine poliploidije ispitivana je Spearmanovim (r_s) koeficijentom korelacije, pri čemu je utvrđeno da između ispitivanih svojstava nije utvrđena statistički značajna veza $r_s = 0,367$ ($p= 0,11$; $n=20$).

Tablica 7. Aritmetička sredina (x), standardna devijacija (sd) i koeficijent varijacije (CV,%) za koncentraciju cinka (mg kg^{-1}) u zrnu ispitivanih kultivara pšenice podijeljenih u skupine s obzirom na razinu poliploidije

	Heksaploidni kultivari	Tetraploidni kultivari
Aritmetička sredina (mg kg^{-1})	25,08	28,92
Standardna devijacija (mg kg^{-1})	5,90	8,02
Koeficijent varijacije (%)	23,55	27,72

6. Rasprava

Pokus je rađen na pšenici kao jednoj od najvažnijih žitarica kako u svijetu tako i Republici Hrvatskoj. Najznačajnije pšenice iz roda *Triticum* koje imaju ogromno gospodarsko značenje su: *Triticum aestivum ssp. vulgare* – meka pšenica i *Triticum durum* – tvrda pšenica (Martinčić i Kozumplik, 1996.). Jedno od važnih svojstava kvalitete koje ima direktan utjecaj na zdravlje čovjeka je koncentracija cinka u zrnu. Cink je vrlo važan mikronutrijent i za biljke i čovjeka jer pomaže pri očuvanju zdravlja jedinke.

Vrlo je malo radova u svijetu u kojima je ispitivan utjecaja poliplodije na koncentraciju cinka u zrnu. Većina istraživanja o usvajanju i akumulaciji cinka u žitarica je provedena na riži ili ječmu zbog veličine genoma. Riža ima najmanji genom od svih žitarica procijenjen na od 400 do 430 Mpb (http://irri.org/), dok je veličina genoma ječma ~5,3 Gpb (http://www.barleygenome.org/). Iz toga razloga manje je radova na pšenici zbog složenosti i veličine genoma. Krušna pšenica je heksaploid, procijenjene veličine genoma ~17 Gpb (http://www.wheatgenome.org/). Palmgren i sur. (2008.) u istraživanju o biofortifikaciji krušne pšenice, durum pšenice i ječma raspravljaju o problemima i mogućem rješenju povećanja koncentracije cinka u zrnu. Prema njima, osnovni problem prilikom usvajanja Zn je barijera korijena mladica i proces nalijevanja zrna. Translokacija Zn iz lista pridonosi akumulaciji cinka u zrno više nego usvajanje iz tla tijekom nalijevanja zrna. U pšenice veliki problem akumulaciji Zn u zrno predstavlja isprekidani ksilem pri bazi zrna. Za razliku od pšenice akumulacija Zn u zrno riže značajno ovisi o usvajanju iz tla u procesu nalijevanja zrna, te se zbog toga biofortifikaciji pšenice treba pristupiti drugačije nego biofortifikaciji riže (Stomph i sur., 2009.).

U usporedbi s divljim srodnicima moderni kultivari imaju nešto nižu koncentraciju cinka (Cakmak i sur., 2004.). Koncentracija cinka u zrnu vrlo malo varira kod modernih tetraploida i heksaploida, a u usporedbi s divljim srodnicima moderni kultivari imaju nižu koncentraciju cinka u zrnu što je povezano s većim prinosom. Mnoga istraživanja su dala sličnu varijaciju u koncentraciji cinka koja se kretala između 14-190 mg kg^{-1}, a u tom rasponu su i rezultati ovoga istraživanja.

Uauy i sur. (2006.) su utvrdili da je u divljih srodnika pšenice smanjena akumulacija cinka u zrno rezultat smanjenje translokacije cinka iz listova. Veća koncentracija cinka nađena je u listu zastavičaru transgeničnih biljaka pšenice nego u netransgeničnih sestrinskih linija. Što

znači da veći broj funkcionalnih TaNAM transkripta dovodi do efikasnijeg usvajanja cinka u biljku. NAM geni imaju bitnu ulogu u akumulaciji nutrijenata tijekom razvoja zrna pšenice.

Koncentracija Zn u tlu značajno utječe na usvajanje i akumulaciju Zn u zrno. Oplemenjivanje pšenice ide u smjeru povećanja prinosa što je dovelo do postupnog smanjenja koncentracije cinka u zrnu. Povećan prinos, prema nekim istraživanjima, rezultira razrjeđenjem hranjivih tvari u zrnu. U istraživanju Cakmaka i sur. (2004.) neke tetraploidne pšenice s većom koncentracijom cinka imale su i zrno veće mase. Kod divljih tetraploidnih pšenica koncentracija cinka nije uvjetovana masom zrna, nego je genetski kontrolirana.

U Turskoj koncentracija cinka u zrnu pšenice, na tlima s dovoljnom količinom cinka u tlu, kreće se od 20-30 mg kg^{-1}, dok se na tlima s deficitom cinka kreće se od 5 do 12 mg kg^{-1} (Erdal i sur., 2002; Kalayci i sur., 1999.). Prema Rengel i sur. 1999. i Cakmak i sur. 2004., prosječna koncentracija cinka u zrnu pšenice u različitim zemaljama kretala se u rasponu od 20 – 35 mg kg^{-1}. Prosječna koncentracija cinka je premala da bi se zadovoljile dnevne ljudske potrebe za cinkom, te bi se koncentracija trebala povećati za 10 mg kg^{-1} (Cakmak, 2008.).

Preman radu Kirchmann i sur. (2009.) koncentracija cinka iznosi 27 mg/kg, međutim gnojidba NPK dovodi do povećanja koncentracije na 33 mg kg^{-1}. Razlog povećanju je nejasan, ali se smatra da utjecaj fosfora povećava koncentraciju cinka u zrnu. Ciljana koncentracija cinka u zrnu pšenice prema UN-u iznosi 60 mg kg^{-1} iz razloga smanjivanja deficita cinka u svijetu.

Nešto niže koncentracije cinka krušnih kultivara i durum kultivara te divljih srodnika utvrdili su Zhao i sur. (2009.). Prosječna koncentracija cinka u zrnu 150 krušnih linija pšenice kretala od 13,5 do 34,5 mg kg^{-1}. U istraživanje je bilo uključeno 25 durum i primitivnih kultivara u kojih se koncentracija cinka u zrnu kretala od 14 do 30,3 mg kg^{-1}.

Prosjek koncentracije cinka u zrnu u istraživanju Škrabić i Čupić (2005.) na mekoj ozimoj pšenici iznosio je 23,8 ± 2,3 mg kg^{-1}. Maksimalna koncentracija je za 1,3 puta veća od minimalne koncentracije cinka u istraživanju. U radu Badakhshan i sur. (2013.) 81 kultivara krušne pšenice koncentracija cinka u zrnu se kretala između 36,37 do 73,80 mg kg^{-1}.

Prilikom usporedbe prosjeka i standardne devijacije za koncentraciju cinka u zrnu utvrđena je veća varijabilnost u tetraploidnih pšenica nego u heksaploidnih pšenica. Pretpostavlja se da tetraploidne pšenice imaju veću varijabilnost svojstva akumulacije cinka u zrno nego heksaploidne pšenice. S obzirom na veliku varijabilnost tetraploidnih pšenica mogu se koristiti u svrhu istraživanja i daljenjem oplemenjivanju na povećanu akumulaciju cinka u

zrno. Za daljnja istraživanja akumulacije cinka u zrno pšenice, preporučava se u istraživanaje uključiti veći broj kultivara da bi se dobio točniji raspon varijabilnosti kako u heksaploidne, tako i u tetraploidne pšenice.

7. Zaključak

Na temelju istraživanja razine poliploidije i koncentracije cinka u zrnu pšenice, može se zaključiti sljedeće:

1. Raspon koncentracije cinka u zrnu čitavog uzorka (n = 20) kretao se u rasponu od 18,75 – 41,90 mg kg^{-1}.
2. Kod heksaploidne pšenice (n = 12) raspon koncentracije cinka u zrnu kretao se u rasponu od 18,75 – 39,07 mg kg^{-1}.
3. Kod tetraploidne pšenice (n = 7) raspon koncentracije cinka u zrnu kretao se od 19,39 – 41,90 mg kg^{-1}.
4. Spearmanov koeficijent korelacije iznosi r_s= 0,367 (p=0,11; n=20), pri čemu nije utvrđena statistički značajna korelacija između razine poliploidije i koncentracije cinka u zrnu.
5. U ovome istraživanju utvrđeno je da razina poliploidije ne utječe na akumulaciju cinka u zrno, te bi se trebala provesti dodatna istraživanja na većem uzorku.

8. Popis literature

1. Badakhshan H., Namdar M., Mohammadzadeh H., Mohammad R.Z. (2013.): Genetic variability analysis of grains Fe, Zn and beta-carotene concentration of prevalent wheat varieties in Iran. Intl. J. Agri. Crop Sci., 6: 57-62.
2. Barber, S.A. (1995.): Soil nutrient bioavailability, 2nd edn. New York, NY, USA: John Wiley & Sons, Inc.
3. Borrill, P., Connorton, J.M., Balk, J., Miller, A.J., Sanders, D., Uauy, C. (2014.): Biofortification of wheat grain with iron and zinc: integrating novel genomic resources and knowledge from model crops. Front Plant Sci, 5:9 8-105.
4. Cakmak, I., Ekiz, H., Yilmaz, A., Torun, B., Köleli, N., Gültekin I., Alkan A., Eker, S. (1997.): Differemtial response of rye, triticale, bread and durum wheats to zinc deficiency in calcareous soils, Plant Soil, 188 (1): 1-10.
5. Cakmak, I. (2000.): Role of zinc in protecting plant cells from reactive oxygen species. New Phytol. 146:185–205.
6. Cakmak, I., Torun, A., Millet, E., Feldman, M., Fahima, T., Korol, A., Nevo, E., Braun, H.J., Özkan, H. (2004.): Triticum dicoccoides: An Important Genetic Resource for Increasing Zinc and Iron Concentration in Modern Cultivated Wheat; Soil Sci. Plant Nutr., 50 (7): 1047-1054.
7. Cakmak, I. (2008.): Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification? Plant Soil 2008, 302:1-17.
8. Cakmak, I., Pfeiffer, W.H., McClafferty., B. (2010): Biofortification of durum wheat with zinc and iron. Cereal Chem. 87: 10-20.
9. Chen, W., Li, L., Chang, A.C., Wu, L., Kwon, S., Bottoms, R. (2008.): Modeling uptake kinetics of cadmium by field-grown lettuce. Environmental pollution 152: 147-152.
10. Distelfeld, A., Cakmak, I., Peleg, Z., Ozturk, L., Yazici, A.M., Budak, H., Saranga, Y., Fahima, T. (2007.): Multiple QTL-effects of wheat Gpc-B1 locus on grain protein and micronutrient concentrations. Physiol Plantarum, 129:635-643.
11. Dvorak, J., Di Terlizzi, P., Zhang, H.B., Resta, P. (1993.): The evolution of polyploid wheats: identification of the A genome donor species. Genome 36: 21–31.

12. Eđed, A. (2011.): Sortna specifičnost akumulacije kadmija, cinka i željeza u zrnu ozime pšenice (*Triticum aestivum* L.), doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
13. Eide, D., Broderius, M., Fett, J., Guerinot, M.L. (1996.): A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 93: 5624-5628.
14. Erdal, I., Yilmaz, A., Taban, S., Eker, S., Torun, B., Cakmak, I. (2002.): Phytic acid and phosphorus concentrations in seed of wheat cultivars grown with and without zinc fertilization, J. Plant Nutr., 25(1): 113-127.
15. Gao, X., Grant, C.A. (2012.): Cadmium and Zinc Concentration in Grain of Durum Wheat in Relation to Phosphorus Fertilization, Crop Sequence and Tillage Management, Applied and Environmental Soil Science, Volume 2012 (2012), Article ID 817107, 10 pages.
16. Gao, X., Mohr, R.M., McLaren, D.L., Grant, C.A. (2011.): Grain cadmium and zinc concentretion in wheat as affected by genitipic variation and potassium chloride fertilization. Field Crop Res 122 (2): 95- 103.
17. Gaut, B.S. (2002.): Evolutionary dynamics of grass genomes. New Phytol. 154: 15–28.
18. Hafeez, B., Khanif, Y.M., Saleem, M. (2013.): Role of zinc in plant nutrition – A review. American journal of experimental Agriculture 3(2):374-391.
19. Kalayci, M., Torun, B., Eker, S., Aydin, M., Ozturk, L., Cakmak, I. (1999.): Grain yield, zinc efficiency and Zn concentration of wheat cultivars grown in a Zn-deficient calcareous soil in field and greenhouse, Field Crop Res, 63: 87–98.
20. Kihara, H. (1966.): Factors affecting the evolution of common wheat. Indian J. Genet. 26A: 14–28.
21. Kilian, B., Özkan, H., Deusch, O., Effgen, S., Brandolini, A., Kohl, J. (2007): Independent wheat B and G genome origins in outcrossing Aegilops progenitor haplotypes. Mol. Biol. Evol. 24: 217–227.
22. Kirchmann, H., Mattsson, L., Eriksson, J.(2009.): Trace element concentration in wheat grain: results from the Swedish long-ter, soil fertility experiments and national monitoring program, Environ. Geochem Health, 31:561-571.
23. Lončarić, Z., Popović, B., Karalić, K., Rékási, M., Kovačević, V. (2010.): Regression model for prediction availability of essential heavy metals in soils. 19th World Congress of Soil Science, Soil Soilutions for a Changing World. Australia. 92-95.

24. Marschner, H. (1995.) Mineral nutrition of higher plants (2nd ed.). London: Academic Press.
25. Martinčić, J., Kozumplik, V. (1996): Oplemenjivanje bilja. Poljoprivredni fakultet Osijek.
26. Matsuoka, Y. (2011.): Evolution of Polyploid Triticum Wheats under Cultivation: The Role of Domestication, Natural Hybridization and Allopolyploid Specoation in their Diversification, Plant Cell Physiol. 52(5): 750–764.
27. Palmgren, M.G., Clemens, S., Williams, L.E., Kramer, U., Borg, S., Schjorring, J.K., Sanders, D. (2008.): Zinc biofortification of cereals: problems and solutions. Trends in Plant Science 13, 464– 473.
28. Pravilnik o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja Narodne novine br.: 32. 12.03.2010.
29. Rebekić, A., Lončarić, Z. (2014.): Međuodnos cinka i kadmija – sinergija ili antagonizam? U: Marić, S., Lončarić, Z. (ur.) Zbornik radova 49. hrvatski i 9. međunarodni simpozij agronoma. Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 16. - 21. veljače 2014., Dubrovnik, str. 17 – 25.
30. Rengel, Z., Batten, G. D., Crowley, D. E. (1999): Agronomic approaches for improving the micronutrient density in edible portions of field crops, Field Crop. Res, 60: 27–40.
31. Schulte, E. E. (1992.): Soil and applied zinc. Vol. 2528. University of Wisconsin - Extension.
32. Shi, R., Li, H., Tong, Y., Jing, R., Zhang, F., Zou, C. (2008.): Identification of quantitative trait locus of zinc and phosphorus density in wheat (*Triticum aestivum L.*) grain. Plant Soil, 306:95–104.
33. Stomph, T.J., Jiang, W., Struik, P.C. (2009.): Zinc biofortification of cereals: rice differs from wheat and barley. Trends Plant Sci 14 (3): 123-124.
34. Škrabić, B., Čupić, S. (2005.): Toxis and essential elements in soft wheat grain in cultivated in Serbia. Eur. Food Res. Technol., 221:361-366.
35. Tsunewaki, K. (2009.): Plasmon analysis in the Triticum-Aegilops complex. Breed. Sci. 59: 455–470.
36. Uauy, C., Distelfeld, A., Fahima, T., Blechl, A., Dubcovsky, J. (2006.): A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. Science 314: 1298–1301.

37. Wessells, K.R., Brown, K.H. (2012.): Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of stunting. PloS One, 7 (11).
38. von Wiren, N., Marschner, H., Romheld, V. (1996.): Roots of iron-efficient maize also absorb phytosiderophore-chelated zinc. Plant Physiol, 111:1119–1125.
39. Welch, R.M. (2002.): The impact of mineral nutrients in food crops on global human health. Plant Soil, 247:83-90.
40. White, P.J., Broadley, M.R. (2009.): Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets — iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. New Phytol, 182:49-84.
41. Zao, A., Lu, X., Chen, Z., Tian, X., Yang, X. (2011.): Zinc Fertilization Methods on Zinc Absorption and Translocation in Wheat. J Agric Sci 3(1): 28-35.
42. Zimmermann, M. (2001.): Micronutrients in Health and Disease. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
43. Zhang, H., Luo, Y., Song, J., Zhang, H., Xia, J., Zhao, Q. (2010.): Predicting As, Cd and Pb uptake by rice and vegetables using field data from China. J Environ Sci 23(1): 70-78.

Internetski izvor

1. WHO (2009.): Global Health Risks. Mortality and bzrden of disease attributable to selected major risk.

http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GlobalHealthRisks_report_full.pdf

2. http://wheatpedigree.net/
3. http://irri.org/
4. http://www.barleygenome.org
5. http://www.wheatgenome.org/
6. http://faostat.fao.org/
7. http://www.dzs.hr/

9. Sažetak

Pšenica, riža i kukuruz imaju glavnu ulogu u ishrani stanovništva. Također, od svih žitarica, navedene kulture zauzimaju najveće površine na svjetskim oranicama. Jedno od svojstava kvalitete zrna žitarica je koncentracija mikronutrijenata u zrnu. Važan esencijalni mikronutrijent je cink (Zn). Pretpostavlja se da nedostatak cinka zahvaća 17,3% stanovništva. Nedostatak ovog esencijalnog mikronutrijenta izaziva niz bolesti biljaka (formiranje klorofila, kloroza tkiva, skraćivanje internodija i kvaliteta ploda) i čovjeka (kožne i respiratorne bolesti). Način povećanja koncentracija mikronutrijenata u zrnu naziva se biofortifikacija. Biofortifikacija dijeli se na agronomsku i genetsku biofortifikaciju. Cilj ovoga istraživanja bio je utvrđivanje utjecaja razine poliploidiije na akumulaciju cinka u zrno pšenice. Istraživanje je provedeno na 20 kultivara pšenice. Mjerenje koncentracije vršilo se na uređaju ICP-OES. Prosječna koncentracija čitavog uzorka iznosila je 26,62 mg kg^{-1} ± 6,9. S obzirom da se ispitivao utjecaj razine poliploidije na koncentraciju cinka u zrnu pšenice čitav uzorak je podijeljen u skupine prema razini poliploidije. Kod skupine heksaploidinih pšenica prosječna koncentracija Zn iznosila je 25,08 mg kg^{-1} ± 5,90, a za skupinu tetraploidinih pšenica prosječna koncentracija Zn iznosi 28,92 mg kg^{-1} ± 8,02. Veza između koncentracije cinka u zrnu pšenice i razine poliploidije ispitivana je Spearmanovim (r_s) koeficijentom korelacije, pri čemu između ispitivanih svojstava nije utvrđena statistički značajna veza r_s= 0,367 (p = 0,11; n = 20).

10. Summary

Wheat, rice and maize have a major role in feeding the population. Also, of all the grains, and culture occupy the largest area in the world's arable land. One of the quality of cereal grains is the concentration of micronutrients in the grain. An important essential micronutrient zinc (Zn). It is assumed that zinc deficiency affects 17.3% of the population. The lack of essential micronutrients causes a number of diseases of plants (chlorophyll formation, chlorosis tissue, shortening of internodes and fruit quality) and human (skin and respiratory diseases). The method of increasing the concentration of micronutrients in the grain is called biofortification. Biofortification is divided into agronomic and genetic biofortifikaciju. The aim of this study was to determine the effect of the level poliploidiije the accumulation of zinc in wheat grain. The study was conducted on 20 wheat cultivars. Concentration measurement was done on the device ICP-OES. The average concentration of the entire sample was 26.62 mg kg-1 ± 6.9. With regard to examining the impact of polyploidy levels in the zinc concentration in the whole wheat grain sample was divided into groups according to the level of polyploidy. In group heksaploidinih wheat average concentration was 25.08 mg kg^{-1} ± 5.90, and for group tetraploidinih wheat average concentration was 28.92 mg kg^{-1} ± 8.02. To examine the relationship between concentration of zinc in wheat grain and levels of polyploidy was investigated by Spearman (rs) correlation coefficient, and has been found that among the traits studied no significant relationship rs = 0.367 (p = 0.11; n = 20).

11. Popis tablica

Br.	Naziv tablice	Str.
Tablica 1a.	Nomenklatura divlje i kultivirane *Triticum* pšenice	3
Tablica 1b.	Nomenklatura divlje i kultivirane *Triticum* pšenice	4
Tablica 2.	Maksimalno dopuštena količina Zn u poljoprivrednim tlima Republike Hrvatske (NN 32/2010)	5
Tablica 3a.	Rodoslovlje, godina priznavanja, podrijetlo i oplemenjivačka kuća kultivara pšenice	11
Tablica 3b.	Rodoslovlje, godina priznavanja, podrijetlo i oplemenjivačka kuća kultivara pšenice	12
Tablica 4.	Divlji srodnici pšenice i njihova razina poliploidije	12
Tablica 5.	Koncentracija Zn (mg kg^{-1}) u zrnu ispitivanih kultivara	19
Tablica 6.	Razina poliploidije kultivara	20
Tablica 7.	Aritmetička sredina (x), standardna devijacija (sd) i koeficijent varijacije (CV%) za koncentraciju cinka (mgkg^{-1}) u zrnu ispitivanih kultivara pšenice podijeljenih u skupine s obzirom na razinu poliploidije	21

12. Popis slika

Br.	Naziv slike	Str.
Slika 1.	Prikaz QTL-ova na kromosomu 4A (Izvor: Shi i sur., 2008.)	8
Slika 2.	Poljski pokus u punoj zriobi pšenice (foto original: M. Kesedžić)	13
Slika 3a.	Mlin Retsch RM200 (foto original: M. Kesedžić)	14
Slika 3b.	Mljevenje uzoraka (foto original: M. Kesedžić)	14
Slika 4.	Dodavanje destilirane vode u otopinu (foto original: M. Kesedžić)	15
Slika 5.	Paleta s uzorcima (foto original: M. Kesedžić)	16
Slika 6.	Optima 2100 DV (foto original: M. Kesedžić)	17
Slika 7.	Programski prozor za očitavanje rezultata (foto orginal: M. Kesedžić)	18

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera **Diplomski rad**
Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Sveučilišni diplomski studij, smjer Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

Utjecaj razine poliploidije na akumulaciju cinka u zrno roda *Triticum*

Marko Kesedžić

Sažetak:

Pšenica, riža i kukuruz imaju glavnu ulogu u ishrani stanovništva. Također, od svih žitarica, navedene kulture zauzimaju najveće površine na svjetskim oranicama. Jedno od svojstava kvalitete zrna žitarica je koncentracija mikronutrijenata u zrnu. Važan esencijalni mikronutrijent je cink (Zn). Pretpostavlja se da nedostatak cinka zahvaća 17,3% stanovništva. Nedostatak ovog esencijalnog mikronutrijenta izaziva niz bolesti biljaka (formiranje klorofila, kloroza tkiva, skraćivanje internodija i kvaliteta ploda) i čovjeka (kožne i respiratorne bolesti). Način povećanja koncentracija mikronutrijenata u zrnu naziva se biofortifikacija. Biofortifikacija dijeli se na agronomsku i genetsku biofortifikaciju. Cilj ovoga istraživanja bio je utvrđivanje utjecaja razine poliploidiije na akumulaciju cinka u zrno pšenice. Istraživanje je provedeno na 20 kultivara pšenice. Mjerenje koncentracije vršilo se na uređaju ICP-OES. Prosječna koncentracija čitavog uzorka iznosila je 26,62 mg kg^{-1} ± 6,9. S obzirom da se ispitivao utjecaj razine poliploidije na koncentraciju cinka u zrnu pšenice čitav uzorak je podijeljen u skupine prema razini poliploidije. Kod skupine heksaploidinih pšenica prosječna koncentracija Zn iznosila je 25,08 mg kg^{-1} ± 5,90, a za skupinu tetraploidinih pšenica prosječna koncentracija Zn iznosi 28,92 mg kg^{-1} ± 8,02. Veza između koncentracije cinka u zrnu pšenice i razine poliploidije ispitivana je Spearmanovim (r_s) koeficijentom korelacije, pri čemu između ispitivanih svojstava nije utvrđena statistički značajna veza r_s= 0,367 (p = 0,11; n = 20).

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Mentor: doc.dr.sc. Sonja Petrović
Broj stranica: 34
Broj grafikona i slika: 8
Broj tablica: 9
Broj literaturnih navoda: 50
Broj priloga:
Jezik izvornika: Hrvatski
Ključne riječi: pšenica, poliploidija, koncentracija cinka
Datum obrane: 5.11.2015
Stručno povjerenstvo za obranu:
1. doc.dr.sc. Andrijana Rebekić, predsjednik
2. doc.dr.sc. Sonja Petrović, mentor
3. prof.dr.sc. Sonja Marić, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek **Graduate thesis**
Faculty of Agriculture in Osijek
University Graduate Studies, Plant breeding and seed science

Influence of polyploidy level on zinc grain accumulation in *Triticum* species

Marko Kesedžić

Abstract:

Wheat, rice and maize have a major role in feeding the population. Also, of all the grains, and culture occupy the largest area in the world's arable land. One of the quality of cereal grains is the concentration of micronutrients in the grain. An important essential micronutrient zinc (Zn). It is assumed that zinc deficiency affects 17.3% of the population. The lack of essential micronutrients causes a number of diseases of plants (chlorophyll formation, chlorosis tissue, shortening of internodes and fruit quality) and human (skin and respiratory diseases). The method of increasing the concentration of micronutrients in the grain is called biofortification. Biofortification is divided into agronomic and genetic biofortifikaciju. The aim of this study was to determine the effect of the level poliploidiije the accumulation of zinc in wheat grain. The study was conducted on 20 wheat cultivars. Concentration measurement was done on the device ICP-OES. The average concentration of the entire sample was 26.62 mg kg^{-1} ± 6.9. With regard to examining the impact of polyploidy levels in the zinc concentration in the whole wheat grain sample was divided into groups according to the level of polyploidy. In group heksaploidinih wheat average concentration was 25.08 mg kg^{-1} ± 5.90, and for group tetraploidinih wheat average concentration was 28.92 mg kg^{-1} ± 8.02. To examine the relationship between concentration of zinc in wheat grain and levels of polyploidy was investigated by Spearman (rs) correlation coefficient, and has been found that among the traits studied no significant relationship rs = 0.367 (p = 0.11; n = 20).

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek
Mentor: doc. dr. sc. Sonja Petrović
Number of pages: 34
Number of figures: 8
Number of tables: 9
Number of references:50
Number of appendices:
Original in: Croatian
Key words: wheat, polyploidy , the concentration of zinc
Thesis defended on date: 5.11.2015
Reviewers:
1. doc. dr. sc. Andrijana Rebekić, chairman
2. doc. dr. sc. Sonja Petrović, mentor
3. prof. dr. sc. Sonja Marić, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d