Razlike u usvajanju željeza u zrno srednjoeuropske germplazme pšenice

Brica, Marina

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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:151:495940

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

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

Marina Brica, apsolvent

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

RAZLIKE U USVAJANJU ŽELJEZA U ZRNO SREDNJOEUROPSKE GERMPLAZME PŠENICE

Diplomski rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE J.J. STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Marina Brica, apsolvent

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

RAZLIKE U USVAJANJU ŽELJEZA U ZRNO SREDNJOEUROPSKE GERMPLAZME PŠENICE

Diplomski rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE J.J. STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Marina Brica, apsolvent

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

RAZLIKE U USVAJANJU ŽELJEZA U ZRNO SREDNJOEUROPSKE GERMPLAZME PŠENICE

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

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

Osijek, 2016.

Dio istraživanja u ovom diplomskom radu proveden 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. Željezo u tlu i biljkama te njegovo usvajanje 3
2.2. Biofortifikacija 6
3. MATERIJAL I METODE 8
3.1. Biljni materijal 8
3.2. Metode rada 9
3.2.1. Poljski pokus 9
3.2.2. Laboratorijski pokus 9
3.3.3. Razaranje biljnog materijala 10
3.3.4. Tehnika mjerenja na ICP-OES-u 11
3.3.5. Statistička obrada podataka 12
4. REZULTATI 13
5. RASPRAVA 17
6. ZAKLJUČAK 21
7. POPIS LITERATURE 22
8. SAŽETAK 29
9. SUMMARY 30
10. POPIS TABLICA 31
11. POPIS SLIKA 32
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA 33
BASIC DOCUMENTATION CARD 34

1. UVOD

Pšenica (*Triticum aestivum* L. *ssp. vulgare*) je, uz rižu i kukuruz, jedna od najznačajnijih ratarskih usjeva, te je njome zasijana jedna četvrtina obradivih površina na svijetu. Pšenični kruh osnovna je hrana za oko 70% ljudske populacije. U okviru roda *Triticum* gospodarsko značenje imaju samo dvije vrste: *Triticum aestivum ssp. vulgare* – meka pšenica i *Triticum durum* – tvrda pšenica (Martinčić i Kozumplik, 1996.). Prosječan prinos pšenice u Republici Hrvatskoj iznosi oko 4,9 t/ha, a uzgaja se na 204 506 ha (Statistički ljetopis RH, 2014.).

Pšenica se koristi u konditorskoj, prerađivačko-prehrambenoj, farmaceutskoj i pivarskoj industriji, te za ishranu stoke. Prema tome oplemenjivanje pšenice ide u smjeru poboljšavanja kvalitete samoga zrna. Svojstva kvalitete zrna su fizičke karakteristike zrna, zdravstveno stanje i svježina, kemijski sastav zrna i dr. (Martinčić i Kozumplik, 1996.).

Pristupačnost pojedinih biljnih hranjiva u tlu utječe na formiranje i rast korijena biljaka. Hranjiva poput dušika, fosfora, kalija i željeza mogu utjecati na formiranje lateralnog korijenja, razvoj korjenovih dlačica, promjer korijena, kut rasta korijena i druge morfološke karakteristike korijena (Ford i Lorenzo, 2001.).

Nedostatak željeza (Fe) kao mikronutrijenta je jedan od najučestalijih nedostataka kod ljudi, s velikm brojem oboljelih. Zrno žitarica važan je izvor Fe za ljude, ali biodostupnost Fe u žitaricama je općenito niska (Moore i sur., 2012.).

Preporučeni dnevni unos Fe kod ljudi kreće se između 8 i 18 mg dan^{-1}, ovisno o dobi i spolu, a preporučuje se 30 mg dan^{-1} za trudnice. Međutim, veliki broj ljudi u svijetu nema mogućnost unijeti ovu količinu Fe uobičajenom, svakodnevnom prehranom (Aciksoz i sur., 2011.; Bhullar i Gruissem, 2013.)

Pšenično brašno je glavni sastojak kruha, te je osnovna hrana velikom dijelu svjetske populacije. Osim toga, većina važnih mikronutrijenata u žitaricama pohranjena je u aleuronskom sloju zrna koji se odstranjuje u postupku mljevenja. Iz tog razloga, od velikog je značaja kreirati sorte koje imaju endosperm obogaćen željezom (Shing i sur., 2012.). Ciljana koncentracija koja se želi postići biofortifikacijom je 40-60 mg kg^{-1} (Gao i sur., 2011.).

Biofortifikacija je postupak za povećanje koncentracije bioraspoloživih esencijalnih elemenata u jestivim dijelovima usjeva, a razlikuje se agronomska i genetska biofortifikacija (White i Broadley, 2009.). Strategija oplemenjivanja bilja (genetska biofortifikacija) je dugoročan proces koji zahtijeva znatan trud i resurse, ali je održiv i ekonomičan pristup koristan u povećanju koncentracije mikronutrijenata. Agronomska biofortifikacija (gnojidba) je brzo rješenje za nedostatak mikronutrijenata u žitaricama, te je to kratkoročni pristup uzgoja (Cakmak, 2008.). Dakle, genetska biofortifikacija je fokusirana na uzgoj kultivara (sorti ili hibrida) čiji merkantilni dio („jestivi“) sadrži povećanu koncentraciju supstanci koje su ljudskom tijelu neophodne, kao što su mikroelementi (željezo, cink, selen i dr.), vitamini, provitamini i dr. Osobitu važnost, biofortifikacija ima za prehranu ljudi i životinja u siromašnim zemljama, koji rijetko imaju pristup namirnicama visoke kvalitete i hranjive vrijednosti ili tržištu hrane obogaćene nutrijentima. U tom smislu, biofortifikacija se često smatra važnom strategijom za rješavanje nedostataka mikronutrijenata u siromašnim zemljama.

Cilj istraživanja

Cilj ovoga istraživanja bio je utvrditi razlike u usvajanju željeza u zrno različitih kultivara pšenice s obzirom na različito podrijetlo.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Željezo u tlu i biljkama te njegovo usvajanje

Nedostatak željeza je ograničavajući faktor za rast biljaka. Željezo je prisutno u visokim količinama u tlu, ali njegova dostupnost biljkama je obično vrlo niska, zbog čega je nedostatak željeza čest problem. U većini obradivih tala koncentracije biljci pristupačnog željeza su vrlo niske, zbog njegove niske topivosti u aerobnim uvjetima i pri pH vrijednostima optimalnim za uzgoj većine kultiviranog bilja. Prema tome biljke su razvile specifične mehanizme kojima povećavaju pristupačnost i usvajanje željeza (Bahat i Stepinac, 2011.).

Željezo je teški metal, a u tlu i biljkama nalazi se kao dvovalentan ili trovalentan kation ili u odgovarajućim spojevima. Vrlo lako mijenja valentno stanje i može graditi kompleksne spojeve, a u biljkama je uglavnom u Fe(III) oksidacijskom stanju. U tlu Fe potječe iz mnogobrojnih primarnih i sekundarnih minerala. Njihovim raspadanjem oslobađa se željezo koje u kiselim tlima brzo gradi sekundarne minerale. Svježe istaloženi minerali željeza su u vidu amorfnih koloida i pristupačni su za ishranu biljaka. Biljke usvajaju željezo kao Fe^{2+}, Fe^{3+} ili u obliku kelata (Vukadinović, 2007.).

Karbonatna tla često sadrže veće količine ukupnog željeza, međutim vrlo male količine su u biljci pristupačnom obliku. Na tlima s visokim pH vrijednostima dolazi do intenzivne tvorbe željeznih spojeva, $Fe(OH)_2^+$, $Fe(OH)_3$ i $Fe(OH)_4^-$ koji su slabo topivi i glavni su razlog slabe opskrbljenosti biljke željezom na karbonatnim tlima. Topivost Fe spojeva najniža je pri pH vrijednosti tla od 7,4-8,5 (http://www.gnojidba.info/mikroelementi/zeljezo-fe-1-dio/).

Željezo se ubraja u elemente čija je pokretljivost u biljkama osrednja ili čak spora, odnosno loša. Distribucija željeza iz starijeg tkiva u mlađe je spora, te se njegov nedostatak prvo javlja na najmlađim listovima. Nedostatak Fe kod biljaka manifestira se klorozom i nekrozom. Željezo posredno ili neposredno sudjeluje u brojnim životnim procesima biljaka: biosinteza klorofila, redukcija nitrata i sulfata, asimilacija dušika, transport elektrona i dr. (Guerinot i Yi, 1994.). Osim navedenog željezo utječe na povećanje otpornosti na sušu i niske temperature. Na usvajanje željeza utječe veliki broj faktora vanjske sredine kao što su visoki pH, visoka koncentracija fosfata i kalcija koji smanjuju njegovo usvajanje (http://www.savjetodavna.hr/savjeti/15/412/kloroza/).

Na dostupnost željeza utječe topivost (Lindsay, 1979.) i brzina otapanja (Kramer i sur., 2006.) Fe(III)oksida (-oksida, -oksihidroksida i –hidroksida). Oba faktora su jako ovisna o pH reakciji tla. Raspoloživost željeza (Fe) u tlu usko je povezana sa pH reakcijom tla. Kod povećanja pH vrijednosti (alkalizacije tala različitim solima; povećana količina vapna u tlu) raspoloživost i mogućnost usvajanja Fe-iona se značajno smanjuje. S druge strane, smanjenjem pH vrijednosti tala (zakiseljavanjem, ispiranjem baza (kalcija)) raspoloživost i mogućnost usvajanja Fe-iona značajno raste. Koncentracije anorganskog željeza u otopini kiselih tala su relativno više u usporedbi s otopinom karbonatnih tala, u kojima su koncentracije željeza ekstremno niske (http://www.gnojidba.info/mikroelementi/fe-helati/).

Nedostatak željeza je rastući zdravstveni problem, a odgovoran je za raznolike zdravstvene komplikacije, uključujući anemiju i oštećenja imunološkog sustava (Welch i Graham, 2004.). Procjenjuje se da je gotovo polovica svjetske populacije pod utjecajem nedostatka Fe. Glavni razlog za široku pojavu nedostatka Fe u ljudskoj populaciji je neraznolika prehrana i visoka potrošnja hrane na bazi žitarica s vrlo malim količinama Fe niske dostupnosti (Bouis, 2003.; Welch i Graham, 2004.).

Pšenica je kao i druge žitarice važan izvor željeza osobito za ljude. Poznato je da rafinirani proizvodi poput brašna sadrže manje željeza nego cijelo zrno. Objavljena su brojna izvješća o prosječnom sadržaju željeza kod pšenice. Sherman (1932.) smatra da je prosječni sadržaj željeza kod cjelovitog zrna oko 5 mg na 100 g. Mnoga od novijih izviješća pokazuju da je prosječan sadržaj željeza obično između 3 i 4 mg na 100 g.

Uz pH, na aktivnost željeznih minerala utječu i oksidoreduktivni procesi i koncentracija kelatizirajućih tvari (Lemanceau i sur., 2009.). Biljke su sposobne mijenjati pH, redoks potencijal i koncentraciju kelatizirajućih tvari u rizosferi, te time utjecati na dostupnost i usvajanje željeza (Lemanceau i sur., 2009.). Procesi kojima biljke pospješuju pristupačnost i usvajanje željeza značajno utječu na topivost i usvajanje drugih mineralnih hranjiva, osobito mikroelemenata.

Kao prilagodbu na nedostatak željeza, trave su razvile mehanizam izlučivanja visokih koncentracija kelatizirajućih tvari, takozvanih fitosiderofora. Te tvari imaju sposobnost kelatizacije Fe^{3+} u Fe^{3+} - fitosiderofora komplekse, koje korijenov sustav trava, specifičnim membranskim transporterima prenosi preko membrane, bez redukcije željeza. Povećanje sinteze i izlučivanja fitosiderofora javlja se kao reakcija na nedostatak željeza, a

tolerantnost na nedostatak željeza u korelaciji je s količinom i vrstom fitosiderofora koji se luče (Bahat i Stepinac, 2011.).

Općenito, biljne vrste koje ispuštaju velike količine fitosiderofora kao što su ječam, raž i pšenica su otpornije na nedostatak željeza od vrsta koje otpuštaju manje količine, kao što su kukuruz, sirak i riža (Marschner i sur., 1986.; Kawai i sur., 1988.; Römheld i Marschner, 1990.; von Wirén i sur., 1995.).

Jestivi dijelovi (endosperm) modernih sorti žitarica su siromašni željezom. Koncentracija željeza u zrnu pšenice je u rasponu od 29 do 73 mg kg^{-1} (Rengel i sur., 1999.). Međutim, više od 75% tih hranjivih tvari nalazi se u dijelovima koji se izgube tijekom mljevenja (Slavin i sur., 2000.; Ozturk i sur., 2006.).

Utvrđena je pozitivna korelacija između količine usvojenog željeza i otpuštanja fitosiderofora. S obzirom na to, jedna od mogućih metoda povećanja usvajanja Fe, jest povećanje izlučivanja fitosiderofora. Količinu usvojenog Fe također je, prema Grotz i Guerinot (2002.), moguće povećati prekomjernom ekspresijom feritin gena, no tu postoji mogućnost da će se na taj način aktivirati transportni sustavi kojima se usvajaju i drugi elementi, poput Cd, koji je toksičan za biljke, životinje i ljude.

U usporedbi s kultiviranim pšenicama, divlji srodnici koji pripadaju rodu *Aegilops* mogu akumulirati znatno više željeza u zrnu (Chhuneja i sur., 2006.). Dakle, prema tome moglo bi se pretpostaviti da će sintetski heksaploid pšenice razvijen križanjem tetraploidne sorte pšenice s diploidnim divljim srodnikom sadržavati više željeza u zrnu. Sintetički heksaploid razvijen križanjem *Triticum turgidum* spp. *durum* s *Aegilops tauschii* imao je oko 30% više željeza u zrnu (Calderini i Ortiz Monasterio, 2003.). Prinos zrna tih sintetika smanjen je za oko 25% što nije poželjno za poljoprivrednike. Takve negativne korelacije između koncentracije željeza i prinosa zrna zabilježene su u brojnim istraživanjima (Oury i sur., 2006.; Morgounov i sur., 2007.; Ficco i sur., 2009.; Zhao i sur., 2009.).

Do sada mapirani QTL-ovi za koncentraciju željeza i cinka odnose se na nakupljanje u cijelo zrno, ali nisu identificirani QTL koji kontroliraju akumulaciju tih minerala u endosperm žitarica. Na akumulaciju tih minerala u zrno žitarica značajno utječe okoliš (Oury i sur., 2006; Morgounov i sur., 2007.; Lu i sur., 2008.; Ficco i sur., 2009.; Garcia-Oliveira i sur., 2009.; Zhao i sur., 2009.; Norton i sur., 2010.; Lungaho i sur., 2011.; Anuradha i sur., 2012.; Qin i sur., 2012.; Šimić i sur., 2012.). Potrebno je identificirati

QTL koji kontroliraju akumulaciju željeza i cinka u endosperm zrna, te identificirati genetske odrednice i razvoj markera koji će biti od koristi u različitim uvjetima okoline.

Karakterizacija germplazme žitarica, uključujući primitivne varijetete i divlje srodnike, također može pomoći u pronalaženju genotipova s većom koncentracijom željeza koji se mogu koristiti u oplemenjivačkim programima.

2.2. Biofortifikacija

Povećanje prinosa usjeva dovodi do smanjenja koncentracije minerala u zrnu (Zhao i McGrath, 2009.). Biofortifikacija, koja ima za cilj povećanje koncentracije mikronutrijenata u jestivim dijelovima biljke kroz uzgoj ili uporabu biotehnologije, smatra se ekonomičnim načinom rješavanja problema nedostatka mikronutrijenata u zemljama u razvoju gdje je taj problem najčešći. Jedan od ključnih koraka za akumulaciju Fe u zrno je njegova remobilizacija iz lišća do zrna. Nedavne studije su pokazale da *Gpc-B1* (sadržaj proteina u zrnu-B1) kod divlje Emmer pšenice utječe na sadržaj proteina u zrnu i koncentraciju Fe u zrnu. Genom pšenice sadrži tri NAM gena, ali moderne krušne sorte pšenice nose nefunkcionalne NAM-B1 alele, što uzrokuje odgođeno starenje lista i niže razine proteina u zrnu, također i niže koncentracije Fe u usporedbi s divljom Emmer pšenicom. Većina Fe lokalizira se u embriju i aleuronskom sloju kod žitarica, koji se uklanjaju mljevenjem ili poliranjem, stoga je važno utvrditi povećava li se biofortifikacijom koncentracija tih minerala u endospermu zrna i povećava li se i njihova bioraspoloživost (Zhao i McGrath, 2009.).

Narwal i sur. (2010.) smatraju da gnojidba tla željezom ima mali ili skoro nikakav utjecaj na koncentraciju željeza kod žitarica.

Nedavni dokazi pokazuju da dušik ima pozitivan utjecaj na akumulaciju Fe u zrnu pšenice (Kutman i sur., 2010.). U istraživanju Aciksoz i sur. (2010.) primjena $FeSO_4$, Fe-EDTA, Fe-EDDHA i Fe citrata u tlo nije imala utjecaja na koncentraciju Fe, dok je primjena dušika (N) u tlo imala pozitivan utjecaj na koncentraciju Fe. Također folijarna primjena uree u fazi mliječne zriobe značajno je utjecala na koncentraciju Fe u zrnu. U slučaju folijarne primjene Fe gnojiva, Fe-EDTA je dao najbolje rezultate u povećanju koncentracije Fe u zrnu.

Peleg i sur. (2009.) mapirali su 82 QTL za 10 različitih minerala dok su Tiwari i sur. (2009.) u istraživanju provedenom na diploidnoj pšenici identificirali dva QTL smještena na kromosomima 2A i 7A odgovorna za sadržaj Fe u zrnu. Studije provedene na *T. monococcum*, glavni QTL identificiran je na kromosomu 5B koji je povezan sa visokim sadržajem Zn, Fe, Cu i Mn (Özkan i sur., 2006.). Nadalje, Singh i sur. (2010.) identificirali su dva QTL (QFe.- pau2A i QFe.pau-7A) za Fe, i QTL (QZn.pau-7A) za Zn, koji su preneseni iz *Aegilops kotschyi* i *Aegilops peregrine*.
Gen-TtNAM B1, nastao od *T. dicoccoides*, utječe na količinu proteina, Zn i Fe u zrnu (Distelfeld i sur., 2007.).

Uspješno biofortificirani usjev mora imati visoku rodnost i isplativost, te značajnu učinkovitost u poboljšanju mikronutrijenata kod ljudi i prihvatljiv za poljoprivrednike i potrošače (Bouis i Welch, 2010.).

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Biljni materijal

Istraživanje je provedeno na 20 sorata pšenice, priznatih u radoblju od 1935. do 2009. godine. Sorte su odabrane na temelju godine priznavanja, zastupljenosti u proizvodnji i području uzgoja (Tablica 1). Od 20 sorata pšenice, 5 su podrijetlom iz Hrvatske, a ostalih 15 su stranog podrijetla od toga 5 iz Mađarske, 3 iz Austrije, 4 iz Njemačke i 3 iz Češke.

Tablica 1. Sorta, rodoslovlje, godina priznavanja i podrijetlo pšenice

Br.	Sorta	Rodoslovlje	Godina	Podrijetlo
1.	Atena	Sason/Perla	2005.	HR
2.	Prima	Sana/Gala	2001.	HR
3.	Tena	Libellula/Bezostaya-1	1973.	HR
4.	Koleda		1998.	HR
5.	Katarina	OSK-5-B-4-1-94/OSK-5-140-22-91	2006.	HR
6.	MV Kemence	F-885-K-4-I/MV-Magdalena	2004.	HU
7.	MV Kodmon	Mironovskaya-29/2*MV-Magdalena	2002.	HU
8.	Bankuty1201		1935.	HU
9.	Fleichmann-481		1961.	HU
10.	MV Prizma	Fatima/MV-8	2000.	HU
11.	Agron	Neuhof-I/Artemovka/Bezostaya-1	1980.	AUT
12.	Indigo		2006.	AUT
13.	Element		2009.	AUT
14.	Darwin	Maris-Huntsman/Boxer/Monopol	2000.	DEU
15.	Gorbi		1991.	DEU
16.	Hezog		1986.	DEU
17.	Altos	Kontrast/Hadmerslebener-48182-85	2000.	DEU
18.	Balada	Hana/Viginta/Danubia	1999.	CZE
19.	Alana	Hana/Mercia	1997.	CZE
20.	Banquet	Vega, Csk, W/Blava	2001.	CZE

3.2. Metode rada

3.2.1. Poljski pokus

Sve sorte pšenice odabrane za istraživanje posijane su u poljski pokus u sklopu uspostavnog istraživačkog projekta „Stvaranje pšenice za budućnost – potraga za novim genima iz postojećih izvora“ (PHENOWHEAT) financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost. Pokus je postavljen na lokaciji Nemetin kod Osijeka tijekom vegetacijske godine 2013./2014. Sorte su zasijane 15. listopada 2013. godine. Posijane su na parcelu dužine 5 m, širine 1,25 m s površinom od 6,25 m^2 (slika 1). Razmak između redova bio je 12,5 cm. Žetva je obavljena ručno slučajnim odabirom 50 klasova svake sorte. Obavljena je 10. srpnja 2014. godine.

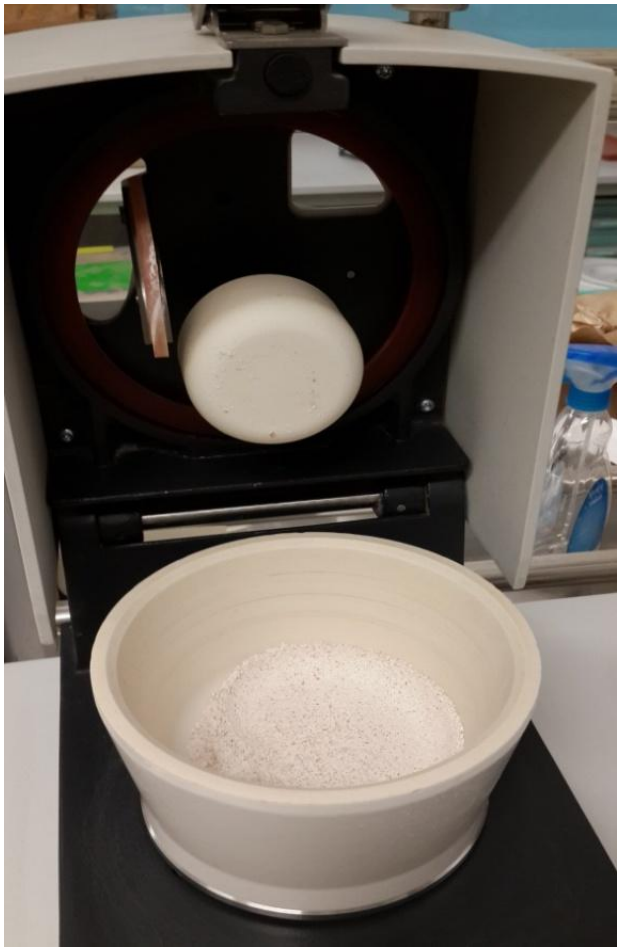


Slika 1. Pšenica u punoj zriobi (foto original: M. Kesedžić)

3.2.2. Laboratorijski pokus

Laboratorisjki pokus je proveden u suradnji sa Zavodom za agroekologiju u laboratoriju za ishranu bilja i fiziologiju bilja. Laboratorijski pokus sastojao se od razaranja uzoraka mokrim postupkom, očitavanja koncentracije Fe u uzorcima pomoću ICP – OES (eng. Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometer) tehnike.

Prije samoga mjerenja koncentracije metala zrno pšenice je očišćeno od pljevica i mljeveno u brašno u mlinu Retsch RM200 (slika 2). Svaki uzorak mljeven je 8 minuta.

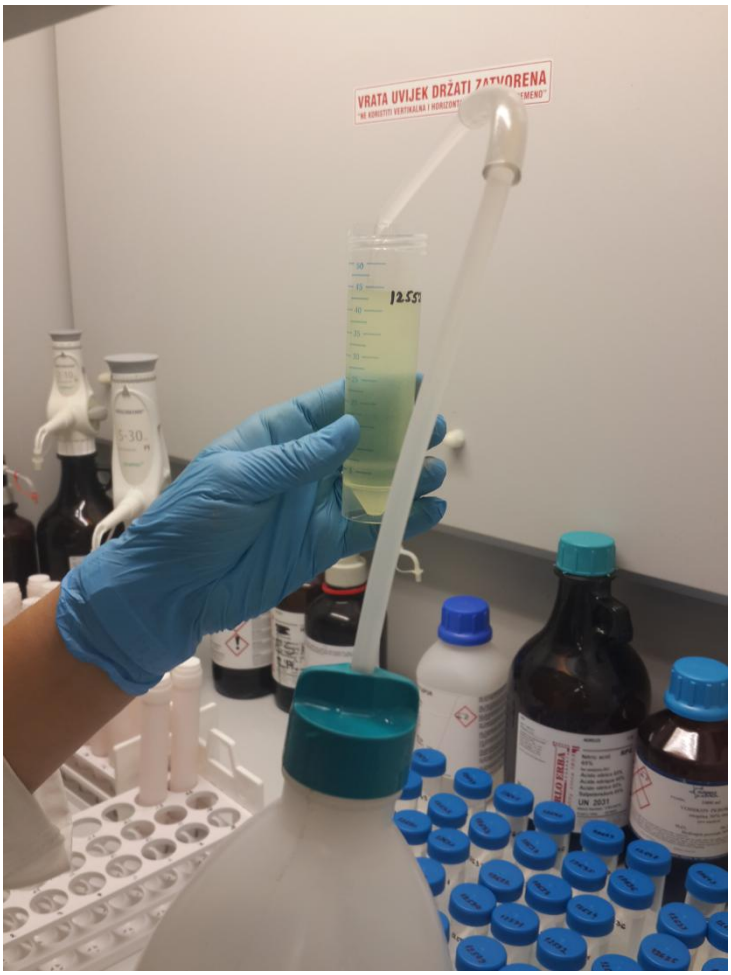


Slika 2. Dobiveni uzorak brašna (foto original: M. Kesedžić)

3.3.3. Razaranje biljnog materijala

Uzorci organske tvari razoreni su prema sljedećem postupku: u teflonske kivete odvagano je 1g suhe biljne tvari, te preliveno sa 8-10 ml koncentrirane HNO_3 i 2-4 ml koncentriranog H_2O_2. Kivete su hermetički zatvorene i umetnute u za njih predviđeno postolje koje se postavi u mikrovalnu peć. Biljni materijal razaran je pod tlakom od 180 psi u trajanju od 20 minuta. Ohlađeni uzorak je kvantitativno uz ispiranje deioniziranom vodom prelijevan u odmjerne tikvice od 25, 50 ili 100 ml i nadopunjen destiliranom vodom (dH_2O) do oznake (slika 3). 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.



Slika 3. Dodavanje destilirane vode (foto original: M. Brica)

3.3.4. Tehnika mjerenja na ICP-OES-u

Kocentracija željeza u otopini biljnih uzoraka utvrđena je direktnim mjerenjem apsorpcijskom tehnikom na ICP-OES (induktivno spregnuta plazma - optička emisijska spektrometrija), proizvođača Perkin Elmer (model: Optima 2100 DV) (slika 4). Koncentracije teških metala dobivene mjerenjem na ICP-OES predstavljaju njihov ukupan sadržaj u biljnoj tvari i izražene su kao µg ml^{-1}. Rezultati analiza su preračunati u koncentraciju Fe, izraženu u mg kg^{-1} suhe tvari biljnog materijala odnosno zrna.



Slika 4. Optima 2100 DV (foto original: M. Brica)

Očitavanje rezultata koncentracije Fe u zrnu obavljeno je WinLab 32 ICP Continuos - Manual Analysis Control programom povezanim s gore navedenim ICP - OES uređajem.

3.3.5. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka napravljena je u Microsoft Office Excel-u i SAS 9.1.3. for Windows programu za obradu podataka. Normalnost raspodjele ispitivanih podataka provjerena je Shapiro - Wilkovim testom. Izračunate su aritmetička sredina (mg kg^{-1}), medijana, standardna devijacija (mg kg^{-1}) i koeficijent varijacije (%) za cijeli uzorak (n = 20), te za skupine sorata (pet skupina) kreiranih na temelju porijekla sorata. Aritmetička sredina predstavlja sumu vrijednosti promatranog obilježja podijeljenu s brojem članova uzorka. Standardna devijacija je prosječno odstupanje od aritmetičke sredine, a koeficijent varijacije predstavlja postotni odnos standardne devijacije i aritmetičke sredine kojim se opisuje varijabilnost ispitivanog svojstva. Veza između koncentracije željeza u zrnu i podrijetla sorte ispitana je Spermanovim koeficijentom korelacije.

4. REZULTATI

Dobivene koncentracije izmjerene su na ICP-OES uređaju. Koncentracije su izražene u mg kg^{-1}. Koncentracije željeza u zrnu ispitivanih sorata pšenice prikazane su u tablici 2.

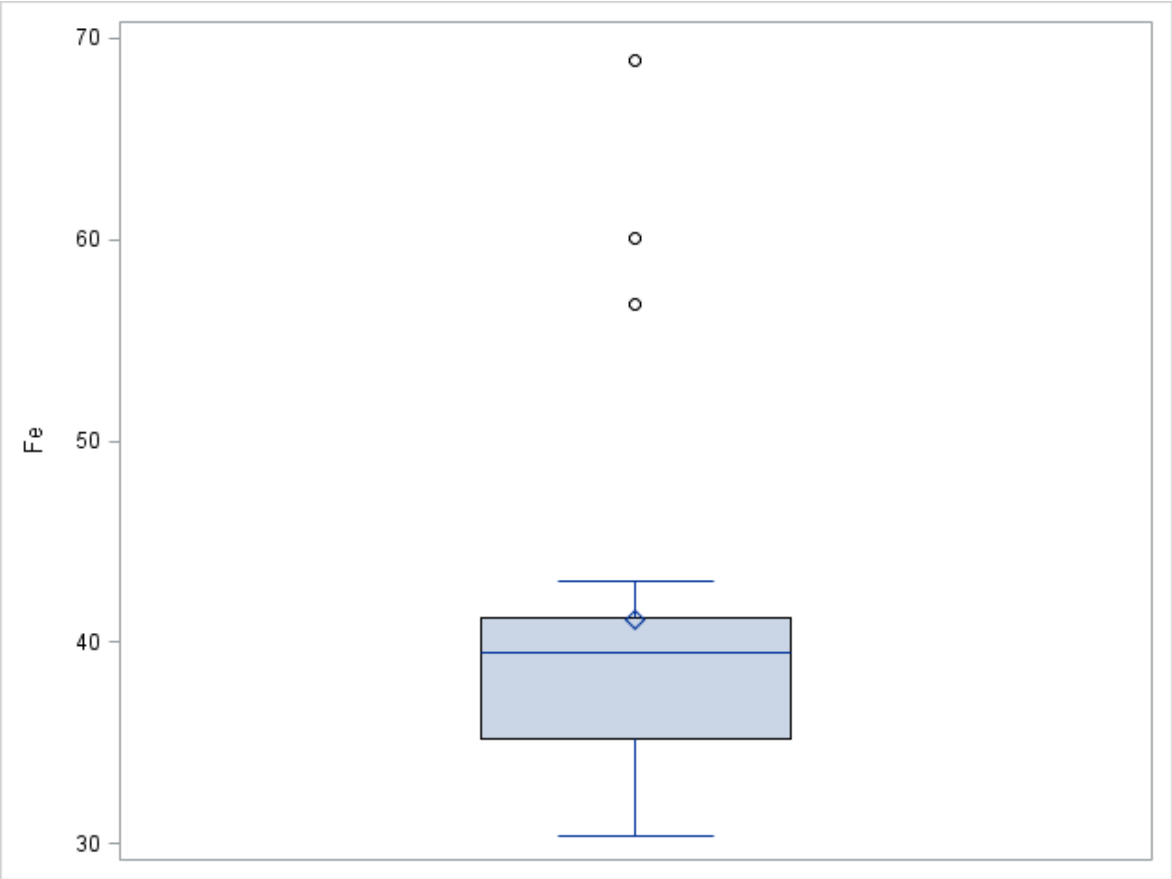
Tablica 2. Koncentracije željeza (mg kg^{-1}) u zrnu

Br.	Sorta	Fe (mg kg^{-1})
1.	Tena	68,95
2.	Atena	60,08
3.	Indigo	56,81
4.	Koleda	43,02
5.	Hezog	41,75
6.	Balada	40,68
7.	Fleichmann-481	40,29
8.	Agron	39,71
9.	Banquet	39,63
10.	Darwin	39,52
11.	MV Kodmon	39,39
12.	Alana	39,23
13.	Element	37,16
14.	Altos	36,80
15.	MV Kemence	35,24
16.	Katarina	35,00
17.	Prima	34,83
18.	MV Prizma	32,17
19.	Bankuty-1201	32,11
20.	Gorbi	30,40

Prosječna koncentracija željeza u cijelom uzorku iznosila je 41,13 mg kg^{-1} ± 9,5. Koeficijent varijacije koncentracije željeza u uzorku iznosio je 23,19%.

Najviša koncentracija željeza utvrđena je u hrvatske sorte Tene (68,95 mg kg^{-1}), dok je najniža koncentracija utvrđena u njemačke sorte Gorbi (30,4 mg kg^{-1}). S obzirom na visoku varijabilnost koncentracije Fe u zrnu i činjenicu da samo 25% ispitivanih sorata ima

koncentraciju Fe u zrnu višu od izračunate prosječne koncentracije od 41,13 mg kg^{-1} napravljen je Shapiro - Wilkov test kojim je ispitano je li raspodjela ispitivane varijable različita od normalne raspodjele. Rezultati Shapiro - Wilkovljevog testa ukazuju na to da raspodjela koncentracija Fe u zrnu pšenice značajno odstupa od normalne distribucije ($W = 0,78$; $p < 0,01$). Razlog zakrivljenosti raspodjele je prisustvo tri sorte (Tena, Atena i Indigo) s vrlo visokim koncentracijama Fe u zrnu u odnosu na ostale ispitivane sorte. Raspodjela koncentracije Fe u zrnu ispitivanih sorata prikazana je na slici 5.



Slika 5. Box-plot dijagram za koncentraciju Fe u zrnu 20 ispitivanih sorata pšenice

Uklanjanjem outliera (tri sorte koje značajno odstupaju od ostalih sorata) iz uzorka, dobiven je uzorak čija raspodjela; prema Shapiro - Wilk testu, ne odstupa od normalne raspodjele ($W = 0,94$; $p = 0,31$).

U tako modificiranom uzorku utvrđeno je da se koncentracija Fe u zrnu pšenice kretala u rasponu od 43,02 mg kg^{-1} (Koleda) do 30,40 mg kg^{-1} (Gorbi). Prosječna koncentracija Fe u ovom uzorku bila je 37,47 mg kg^{-1} $\pm$ 3,65. Na temelju istih podataka izračunat je koeficijent varijacije koji iznosi 9,73%.

Cijeli uzorak (n = 20) podijeljen je u pet skupina s obzirom na podrijetlo sorata (Hrvatska, Mađarska, Austrija, Njemačka i Češka). Skupine sorata prikazane su u tablici 3.

Tablica 3. Skupine sorata prema podrijetlu

Hrvatska	**Mađarska**	**Austrija**	**Njemačka**	**Češka**
Skupina 1	**Skupina 2**	**Skupina 3**	**Skupina 4**	**Skupina 5**
Atena	MV Kemence	Agron	Darwin	Balada
Prima	MV Kodmon	Indigo	Gorbi	Alana
Tena	Bankuty-1201	Element	Hezog	Banquet
Koleda	Fleichmann-481		Altos	
Katarina	MV Prizma			

Uspoređujući skupine, najvišu koncentraciju željeza ima skupina hrvatskih sorata pšenice, dok najnižu koncentraciju ima skupina mađarskih sorata. Mjere opisne statistike za sve skupine prikazane su u tablici 4.

Prosječna vrijednost skupine hrvatskih sorata iznosi 48,37 mg kg^{-1} ± 15,42, dok je koeficijent varijacije bio 31,88%. Najvišu koncentraciju iz te skupine imala je sorta Tena (68,95 mg kg^{-1}), a najmanju sorta Prima (34,83 mg kg^{-1}).

Prosječna vrijednost skupine mađarskih sorata je 35,87 mg kg^{-1} ± 3,87. Koeficijent varijacije je 10,79%. Iz te skupine najveću koncentraciju imala je sorta Fleichmann-481 (40,29 mg kg^{-1}), a najmanju Bankuty-1201 (32,11 mg kg^{-1}).

Prosječna vrijednost skupine austrijskih sorata iznosi 44,56 mg kg^{-1} ± 10,68. Koeficijent varijacije iznosio je 23,98%. Najveću koncentraciju željeza iz te skupine imala je sorta Indigo (56,81 mg kg^{-1}), a najmanju sorta Element (37,16 mg kg^{-1}).

Prosječna vrijednost skupine njemačkih sorata iznosi 37,11 mg kg^{-1} ± 4,91. Koeficijent varijacije je 13,24%. Najveću koncentraciju iz te skupine imala je sorta Hezog (41,75 mg kg^{-1}), a najmanju sorta Gorbi (30,4 mg kg^{-1}).

Prosječna vrijednost skupine čeških sorata iznosi 39,85 mg kg^{-1} ± 0,75. Koeficijent varijacije je 1,88%. Najveću koncentraciju iz te skupine imala je sorta Balada (40,68 mg kg^{-1}), a najmanju sorta Alana (39,23 mg kg^{-1}).

Tablica 4. Aritmetička sredina (mg kg^{-1}), standardna devijacija (mg kg^{-1}), medijana (mg kg^{-1}) i koeficijent varijacije (%) za skupine sorata pšenice različitog podrijetla

Podrijetlo	Veličina uzorka	Aritmetička sredina	Standardna devijacija	Medijana	Koeficijent varijacije
Hrvatska	5	48,37	15,42	43,02	31,88
Austrija	3	44,56	10,68	39,71	23,98
Češka	3	39,85	0,75	39,63	1,88
Njemačka	4	37,11	4,91	38,16	13,24
Mađarska	5	35,87	3,87	35,42	10,79

Veza između koncentracije željeza u zrnu pšenice i podrijetla ispitivana je Spermanovim koeficijentom korelacije koji se označava sa r_s, pri čemu nije utvrđena statistički značajna veza između ispitivanih svojstava $r_s = - 0,05$ ($p = 0,82$; $n = 20$).

5. RASPRAVA

Neodgovarajuća prehrana je jedan od najčešćih uzroka nedostatka željeza u ljudskom organizmu. Općenito, žitarice se ne smatraju najboljim izvorom Fe u svakodnevnoj prehrani ljudi, zbog relativno niske koncentracije, a posebno zbog niske bioraspoloživosti Fe iz zrna žitarica. Iz tog razloga već se dugi niz godina ispituje varijabilnost koncentracije Fe u zrnu žitarica. Još 1978. godine House i Welch su proveli istraživanje na 18 sorata pšenice posijanih na nekoliko lokacija u SAD-u i utvrdili da se koncentracija željeza u zrnu kretala od 34 - 55 μg g^{-1}, s prosjekom od 42 μg g^{-1}. Navedeni autori zaključuju da na koncentraciju Fe u zrnu pšenice utječu i agronomski i genetski čimbenici te da je prema tome moguće odgovarajućim mjerama utjecati na povećanje koncentracije Fe u zrnu.

Morganov i sur. (2007.) su proveli istraživanje na 66 sorata ozime i jare pšenice gdje se koncentracija Fe u zrnu kretala od 25 - 56 mg kg^{-1} , s prosjekom od 38 mg kg^{-1}. Zaključili su da jare sorte imaju višu koncentraciju Fe od ozimih sorata pšenice. Također su utvrdili da postoji negativna korelacija između koncentracije Fe i visine biljke, te koncentracije Fe i sadržaja glutenina.

U provedenom istraživanju ispitivana je koncentracija Fe u zrnu 20 sorata krušne pšenice različitog podrijetla, te je utvrđeno da se u ispitivanom uzorku koncentracija Fe kretala u rasponu od 30,4 - 68,95 mg kg^{-1}. Sličan raspon koncentracije Fe u zrnu utvrdili su Cakmak i sur. (2004.), Goudias i Hash (2015.), te Badakhshan i sur. (2013.) koji su dvogodišnjim istraživanjem utvrdili da se u 81 sorti pšenice koncentracija Fe u zrnu kretala od 41,36 - 67,67 mg kg^{-1}.

S obzirom na raspon koncentracija Fe u zrnu pšenice koji je utvrđen u provedenom istraživanju, kao i u istraživanjima gore navedenih autora, vidljivo je da postoji velika varijabilnost koncentracije Fe u zrnu u kultiviranih pšenica. No dosadašnja istraživanja ukazuju na još veću varijabilnost koncentracije Fe u zrnu divljih srodnika. Analiza divljih srodnika pšenice otkrila je da vrste koje imaju D ili S genom, kao što su *Aegilops tauschii* Coss. (2n=2x=14, DD), *Aegilops kotschyi* Boiss. (2n=4x=28, UUS^VS^V), *Aegilops speltoides* Tausch (2n=2x=14, SS), *Aegilops longissima* Schweinf. i Muschl. (2n=2x=14, S^lS^l), i *Aegilops bicornis* (Forsk) Jaub. i Sp. (2n=2x=14, S^bS^b) mogu akumulirati znatno više Fe u zrno nego kultivirana pšenica (Chhuneja i sur., 2006.), što ukazuje da D ili S genom ima pozitivne učinke na nakupljanje Fe u zrno pšenice.

Bálint i sur. (2001.) istraživali su koncentraciju minerala kod kultiviranih vrsta pšenice, te kod divljih *Triticum* i *Aegilops* vrsta. Koncentracija Fe kod kultiviranih vrsta u prosjeku je bila 35,3 mg kg^{-1} ± 8,7, kod divljih *Triticum* vrsta bila je 50,3 mg kg^{-1} ± 16,1, te kod *Aegilops* vrsta 30,7 mg kg^{-1} ± 10,6.

U provedenom istraživanju nije utvrđena veza između koncentracije Fe u zrnu i podrijetla sorte, iako se varijabilnost koncentracije Fe u zrnu kretala od 31,88% (n = 5) u skupini hrvatskih sorata do samo 1,88% (n = 3) u skupini čeških sorata. Također, u skupini hrvatskih sorata utvrđena je najviša prosječna koncentracija Fe u zrnu (48,37 mg kg^{-1}) dok je u skupini mađarskih sorata utvrđena 25,88% niža koncentracija Fe u zrnu u odnosu na prosjek hrvatskih sorata. S obzirom na mali broj sorata po skupinama (zemlja podrijetla) bilo bi preporučljivo provesti istraživanje na većem broju sorata kako bi dobili točnije rezultate.

Sintetičke heksaploidne linije identificirane su kao potencijalni izvori za povećanje mikronutrijenata u žitaricama. Međutim, fiziološki mehanizam odgovoran za veće koncentracije mikronutrijenta nije poznat. Sintetički heksaploidi pokazali su veće koncentracije odabranih mikro i makro nutrijenata u žitaricama između 25 i 30% više za željezo, magnezij i cink, a prinos im je sličan heksaploidnim linijama. Na temelju tih rezultata, istraživači sugeriraju da bi sintetički heksaploidi bili vrijedan izvor germplazme za povećanje mikronutrijenata u pšenici (Calderini i Ortiz-Monasterio, 2003.).

Nekoliko je istraživanja ukazalo na QTL za koncentraciju Fe (Distelfeld i sur., 2007.; Tiwari i sur., 2009.; Peleg i sur., 2009.; Xu i sur., 2012.). Peleg i sur. (2009.) identificirali su QTL za koncentraciju Fe *wpt-1294* i *wpt-2135* na 2B; Xu i sur. (2012.) identificirali su QTL povezan s koncentracijom Fe u blizini markera *Xbarc360* na 5A kromosomu.

U provedenom istraživanju 35% ispitivanih sorata pšenice imalo je koncentraciju Fe u zrnu iznad 40 mg kg^{-1} dok su dvije sorte, odnosno 10% ispitivanog uzorka imalo koncentraciju Fe u zrnu iznad 60 mg kg^{-1}. Gledajući sa stajališta da je ciljana koncentracija Fe u zrnu koju se želi postići biofortifikacijom 40 - 60 mg kg^{-1} (Gao i sur., 2011.) navedeni rezultati ukazuju na to da i među sortama pšenice koje su zastupljene u proizvodnji ima sorata koje imaju zadovoljavajuću akumulaciju Fe u zrno. Prema tome, navedene sorte bi se mogle koristiti za daljnja istraživanja akumulacije Fe i za korištenje u oplemenjivačkim

programima kojima je cilj kreiranje sorata sa svojstvom povećane akumulacije Fe u zrno, odnosno za genetsku biofortifikaciju.

Osim genetske biofortifikacije, koncentraciju Fe u zrnu moguće je povećati i mjerama agronomske biofortifikacije koje obuhvaćaju primjenu agrotehničkih mjera, prvenstveno prihranu željezom u cilju veće akumulacije Fe u zrno. Uloga gnojidbe Fe i metode primjene Fe hranjiva u cilju povećanja koncentracije Fe u jestivim dijelovima žitarica rijetko se proučava. Većina istraživanja koja se bave primjenom Fe gnojiva usmjerena su na ispravljanje nedostatka Fe kod kloroze i poboljšanja prinosa (Tagliavini i sur., 2000.; Abadia i sur., 2002.; Fernandez i Ebert 2005.). Zbog brzog prelaska Fe u nedostupne oblike kada se primjenjuje na karbonatnim tlima i slabe pokretljivosti Fe u floemu, folijarna gnojidba i gnojidba u tlo ima malu učinkovitost u obogaćivanju žitarica željezom. Neki radovi su pokazali da biljke nisu reagirale na folijarnu gnojidbu Fe u smislu povećanja koncentracije Fe u zrnu (Gupta, 1991.)

U nedavnim studijama pokazalo se da je sadržaj N u biljci važan čimbenik u obogaćivanju žitarica sa Fe. Povećanjem dostupnog N povećava se remobilizacija N i Fe iz vegetativnih dijelova u zrno (Uauy i sur., 2006.; Waters i sur., 2009.), što rezultira pozitivnom korelacijom između Fe u zrnu i koncentracije N (Cakmak i sur., 2004.; Distelfeld i sur., 2007.), te je prema tome i prihrana odgovarajućim količinama dušičnih hranjiva, jedan od koraka u agronomskoj biofortifikaciji pšenice.

Zrna žitarica sadrže različite antinutritivne tvari poput fitinske kiseline i tanina (Guttieri i sur., 2006.), što može smanjiti bioraspoloživost mikronutrijenata. Fitati, kompleks fitinska kiselina i mineralni elementi, smanjuju koncentraciju bioraspoloživih hranjivih elemenata i na taj način dovode do zdravstvenih problema, kao što su nedostatak Fe i Zn (Liu i sur., 2006.). Kod žitarica postoje i promotori (npr. vitamin C, provitamin A, hemoglobin i razne organske kiseline i aminokiseline) koji mogu potaknuti apsorpciju mikronutrijenata. Koncentracija fitinske kiseline u pšenice pokazuje značajnu genetsku varijaciju od 7 do12 mg g^{-1} (Erdal i sur., 2002.).

Manje gena sudjeluje u biosintezi i metabolizmu inhibitora i promotora u usporedbi s apsorpcijom, transportom i odlaganjem Fe. Dakle, poboljšanje bioraspoloživosti Fe trebalo bi biti puno lakše nego povećanje njegove koncentracije u žitaricama (Bouis i Welch,

2010.), te bi prema tome trebalo uz ispitivanje koncentracije Fe ispitivati i sadržaj inhibitora odnosno promotora, kako bi dobili kompletniju sliku o svakoj pojedinoj sorti.

Razumijevanje genetskih čimbenika koji kontroliraju koncentraciju Fe važno je za uzgoj pšenice pomoću markerima potpomognute selekcije (MAS – Marker Assisted Selection). Pokazalo se da gen *Gpc-B1* utječe na sadržaj proteina u zrnu, koncentraciju Fe i Zn, te na regulaciju starenja biljke (Uauy i sur., 2006.). Distelfeld i sur. (2006.) su utvrdili povezanost kodominantnog molekularnog markera *Xuhw89* s genom *Gpc-B1* te da se može koristiti u markerima potpomognutoj selekciji već u ranim generacijama koje će olakšati izbor sorti pšenice s poboljšanom koncentracijom Fe.

S obzirom na rasprostranjenost mineralne pothranjenosti kod ljudi širom svijeta, biofortifikaciju mikronutrijentima, a posebno Fe i Zn treba poticati. Temeljna istraživanja germplazme s višim koncentracijama Fe i dalje su potrebna. Srodnici pšenice i primitivni varijeteti koji imaju visoku koncentraciju Fe mogu biti važni genetski resursi za poboljšanje mikronutrijeneta u zrnu pšenice.

Odnosi između prinosa zrna i koncentracije Fe su vrlo složeni, te je potrebno razumijevanje genetske osnove za interakciju između koncentracije mikronutrijenata i prinosa zrna.

Kombinacija konvencionalnog uzgoja s markerima potpomognutom selekcijom strategija je za učinkovitiji uzgoj sorata s većim prinosom, koncentracijom mikronutrijenata i poboljšanom dostupnošću mikronutrijenata.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju istraživanja različitog podrijetla i koncentracije željeza u zrnu pšenice, može se zaključiti sljedeće:

1. Raspon koncentracije željeza u zrnu u čitavom uzorku (n = 20) pšenice kretao se od 30,4 - 68,95 mg kg^{-1}
2. Kod hrvatskih sorata (n = 5) koncentracija željeza u zrnu kretala se u rasponu od 34,83 - 68,95 mg kg^{-1}
3. Kod mađarskih sorata (n = 5) koncentracija željeza u zrnu kretala se u rasponu od 32,11 - 40,29 mg kg^{-1}
4. Kod austrijskih sorata (n = 3) koncentracija željeza u zrnu kretala se u rasponu od 37,16 - 56,81 mg kg^{-1}
5. Kod njemačkih sorata (n = 4) koncentracija željeza u zrnu kretala se u rasponu od 30,4 - 41,75 mg kg^{-1}
6. Kod čeških sorata (n = 3) koncentracija željeza u zrnu kretala se u rasponu od 39,23 - 40,68 mg kg^{-1}
7. Između koncentracije željeza u zrnu pšenice i podrijetla nije utvrđena statistički značajna veza (r_s = - 0,05; p = 0,82; n = 20).
8. Na temelju prikazanih rezultata može se zaključiti da i u malom uzorku (n = 20) ozime pšenice srednjoeuropskog porijekla postoji velika raznolikost u akumulaciji željeza u zrno. Uključivanjem većeg broja genotipova u istraživanje vjerojatno bi potvrdili tu raznolikost te bi bili u mogućnosti izdvojiti genotipove s visokom akumulacijom željeza u zrno koji bi se mogli koristiti za daljnja istraživanja.

7. POPIS LITERATURE

1. Abadia, A., Sanz, M., de las Rivas, J., Abadia, J. (2002.): Correction of iron chlorosis by foliar sprays. Acta Horticulturea 594:115-121.
2. Aciksoz, S.B., Yazici, A., Cakmak, I. (2010.): Effect of nitrogen and iron fertilizers on grain concentration of iron in wheat. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World.
3. Aciksoz, S.B., Yazici, A., Ozturk, L., Cakmak, I. (2011.): Biofortification of wheat with iron through soil and foliar application of nitrogen and iron fertilizers. Plant Soil. 349:215-225.
4. Anuradha, K., Agarwal, S., Rao, Y.V., Rao, K.V., Viraktamath, B.C., Sarla, N. (2012.): Mapping QTLs and candidate genes for iron and zinc concentrations in unpolished rice of madhukar × swarna rils. Gene 508: 40-233.
5. Badakhshan, H., Moradi, N., Mohammadzadeh, H., Zakeri, M.R. (2013.): Genetic Variability Analysis of Grains Fe, Zn and Beta-carotene Concentration of Prevalent Wheat Varieties in Iran. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 6(2):57-62.
6. Bahat, Z., Stepinac, D. (2011.): Nedostatak željeza kod biljaka s različitim mehanizmima usvajanja željeza, „case study“: kukuruz i uljana repica. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
7. Bálint, A.F., Kovács, G., Erdei, L., Sutka. J. (2001.): Comparison of the Cu, Zn, Fe, Ca and Mg contets of the grains of wild, ancient and cultivated wheat species. Cereal Research Communications. 29:3-4.
8. Bhullar, N.K., Gruissem, W. (2013.): Nutritional enhancement of rice for human health: The contribution of biotechnology. Biotechnology Advances. 31(1):50-57.
9. Bouis, H.E. (2003.): Micronutrient fortification of plants through plant breeding: can it improve nutrition in man at low cost? Proceedings of the Nutrition Society. 62:403-411.
10. Bouis, H. E., Welch, R.M. (2010.): Biofortification - A sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the Global South. Crop Science. 50:S20-S32.
11. Cakmak, I. (2008.): Enrichment ofcereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? Plant Soil. 302:1-17.

12. Cakmak, I., Tourn, A., Millet, E., Feldman, M., Fahima, T., Korol, A., Nevo, E., Braun, H.J., Ozkan, H. (2004.): *Triticum dicoccoide*: An important genetic resource for increasing zinc and iron concentration in modern cultivated wheat. Soil Science & Plant Nutrition. 50:1047-54.
13. Calderini, D.F., Monasterio, I.O. (2003.): Are synthetic hexaploids a means of increasing grain element concentrations in wheat? Euphytica. 134:78-169.
14. Chhuneja, P., Dhaliwal, H.S., Bains, N.S., Singh, K. (2006.): *Aegilops kotschyi* and *Aegilops tauschii* as sources for higher levels of grain iron and zinc. Plant Breeding. 125:31-529.
15. Distelfeld, A., Uauy, C., Fahima, T., Dubcovsky, J. (2006.): Physical map of the wheat high-grain protein content gene *Gpc-B1* and development of a high-throughput molecular marker. New Phytologis. 169:753-763.
16. Distelfeld, A., Cakmak, I., Peleg, Z., Ozturk, L., Yazici, A.M., Budak, H. (2007.): Multiple QTL-effects of wheat *Gpc-B1* locus on grain protein and micronutrient concentrations. Physiologia Plantarum. 129:635-643.
17. Erdal, I., Yilmaz, A., Taban, S., Eker, S., Torun, B., Cakmak. I. (2002.): Phytic acid and phosphorus concentrations in seeds of wheat cultivars grown with and without zinc fertilization. Journal of Plant Nutrition. 25:113-127.
18. Fernandez, V., Ebert, G. (2005.): Foliar iron fertilization: a critical review. Journal of Plant Nutrition. 28:2113-2124.
19. Ficco, D.B.M., Riefolo, C., Nicastro, G., De Simone, V., Di Gesu, A.M., Beleggia, R., Platani, C., Cattivelli, L., De Vita, P. (2009.): Phytate and mineral elements concentration in a collection of Italian durum wheat cultivars. Field Crops Research. 111:42-235.
20. Ford, B., Lorenzo, H. (2001.): The nutritional control of root development. Plant and Soil. 232:51-68.
21. Gao, X., Mohr, R.M., McLaren D.L., Grant, C.A. (2011.): Grain cadmium and zinc concentration in wheat as affected by genotypic variation and potassim chloride fertilization. Fields Crops Research. 122(2):95-103.
22. García-Bañuelos, M.L., Sida-Arreola, J.P., Sánchez, E. (2014.): Biofortification - promising approach to increasing the content of iron and zinc in staple food crops. Journal of Elementology. 865-888

23. Garcia-Oliveira, A.L., Tan, L., Fu, Y., Sun, C. (2009.): Genetic identification of quantitative trait loci for contents of mineral nutrients in rice grain. Journal of Integrative Plant Biology. 5:84-92.
24. Goudia, D. B., Hash, T. (2015.): Breeding for high grain Fe and Zn levels in cereals. International Journal of Innovation and Applied Studies. 12 (2): 342-354.
25. Grotz, N., Guerinot, M.L. (2002.): Limiting nutrients:an old problem with new solutions? Current opinion in plant biology. 5(2):158-163.
26. Guerinot, M.L., Yi, Y. (1994.): Iron: nutritious, noxious, and not readily available. Plant Physiology. 104:815-820.
27. Gupta, U.C. (1991.): Iron statues of crops in Prince-Edward-Island and effect of soil-pH on plant iron concentration. Canadian Journal Soil Science. 71:197-202.
28. Guttieri, M.J., Peterson, K.M., Souza, E.J. (2006.): Agronomic performance of low phytic acid wheat. Crop Science. 46:2623-2629.
29. House, W.A., Welch, R.M. (1987.): Bioavailability to Rats of Iron in Six Varieties of Wheat Grain Intrinsically Labeled with Radioiron. Journal of Nutrition. 117:476-480.
30. Kawai, S., Takagi, S., Sato, Y. (1988.): Mugineic acid-family phytosiderophores in root-secretions of barley, corn and sorghum varieties. Journal of Plant Nutrition. 11:633-642.
31. Kramer, S. M., Crowley, D., Kretzschmar, R. (2006.): Geochemical aspects of phytosiderophore-promoted iron acquisition by plants. Advances in Agronomy. 91:1-46.
32. Kutman, U.B., Yildiz, B., Ozturk, L., Cakmak, I. (2010.): Biofortification of durum wheat with zinc through soil and foliar applications of nitrogen. Cereal Chemistry. 87:1-9.
33. Lemanceau, P., Bauer, P., Kraemer, S., Briat, J. F. (2009.): Iron dynamics in the rhizosphere as a case study for analyzing interaction between soils plants and microbes. Plant and Soil. 321: 513-535.
34. Lindsay, W. L. (1979.): Chemical equilibria in soils. Wiley & Sons, New York. ISBN 0-471-02704-9.
35. Liu, Z.H., Wang, H.Y., Wang, X.E., Zhang, G.P., Chen, P.D., Liu, D.J. (2006.): Genotypic and spike positional difference in grain phytase activity, phytate, inorganic phosphorus, iron, and zinc contents in wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal Cereal Science. 44:212-219.

36. Lu, K., Li, L., Zheng, X., Zhang ,Z., Mou, T., Hu, Z. (2008.): Quantitative trait loci controlling Cu, Ca, Zn, Mn and Fe content in rice grains. Journal of Genetics. 87: 10-305.
37. Lungaho, M.G., Mwaniki, A.M., Szalma, S.J., Hart, J.J., Rutzke, M.A., Kochian, L.V., Glahn, R.P., Hoekenga, O.A. (2011.): Genetic and physiological analysis of iron biofortification in maize kernels. PLOS ONE. 6:1-10.
38. Marschner, H., Römheld, V., Kissel, M. (1986.): Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron. Journal of Plant Nutrition. 9:695-713.
39. Martinčić, J., Kozumplik, V. (1996.): Oplemenjivanje bilja. Poljoprivredni fakultet Osijek
40. Moore, K.L., Zhao, F.J., Gritsch, C.S., Tosi, P., Hawkesford, M.J., McGrath, S.P., Shewry, P.R., Grovenor, C.R.M. (2012.): Localisation of iron in wheat grain using high resolution secondary ion mass spectrometry. Journal of Cereal Science. 55(2):183-187.
41. Morgounov, A., Gomez-Becerra, H.F., Abugalieva, A., Dzhunusova, M., Yessimbekova, M., Muminjanov, H., Zelenskiy, Y., Ozturk, L., Cakmak, I. (2007.): Iron and zinc grain density in common wheat grown in central Asia. Euphytica. 155:193-203.
42. Narwal, R.P., Malik, R.S.,Dahiya, R.R. (2010.): Addressing variations in status of a few nutritionally important micronutrients in wheat crop. Proceedings of the 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World, Brisbane, Australia.
43. Norton, G.J., Deacon, C.M., Xiong, L., Huang, S., Meharg, A.A., Price, A.H. (2010.): Genetic mapping of the rice ionome in leaves and grain: identification of QTLs for 17 elements including arsenic, cadmium, iron and selenium. Plant Soil. 329: 53-139.
44. Oury, F.X., Leenhardt, F., Rémésy, C., Chanliaud, E., Duperrier, B., Balfourier, F., Charmet, G. (2006.): Genetic variability and stability of grain magnesium, zinc and iron concentrations in bread wheat. European Journal of Agronomy. 25:85-177.
45. Ozturk, L., Yazici, M.A., Yucel, C., Torun, A., Cekic, C., Bagci, A., Ozkan, H., Braun, H.J., Sayers, Z., Cakmak, I. (2006.): Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. Physiologia Plantarum. 128:144-52.

46. Özkan, H., Brandolini, A., Torun, A., Altintas, S., Eker, S., Kilian, B. (2006.): Natural variation and identification of microelements content in seeds of Einkorn Wheat (*Triticum monococcum*). In: Proceedings of the 7th International Wheat Conference, Argentina, pp. 455-462.
47. Peleg, Z., Cakmak, I., Ozturk, L., Yazici, A., Jun, Y., Budak, H., Korol, A.B., Fahima, T., Saranga, Y. (2009.): Quantitative trait loci conferring grain mineral nutrient concentrations in durum wheat x wild emmer wheat RIL population. Theoretical and Applied Genetics. 119:353-369.
48. Qin, H., Cai, Y., Liu, Z., Wang, G., Wang, J., Guo, Y., Wang, H. (2012.): Identification of QTL for zinc and iron concentration in maize kernel and cob. Euphytica. 187:58-345.
49. Rengel, Z., Batten, G.D., Crowley, D.E. (1999.): Agronomic approaches for improving the micronutrient density in edible portions of field crops. Field Crops Research. 60:27-40.
50. Römheld, V., Marschner, H. (1990.): Genotypical differences among graminaceous species in release of phytosiderophores and uptake of iron phytosiderophores. Plant Soil. 123:147-153.
51. Sherman, H. C. (1932.): Chemistry of Foods and Nutrition. Macmillan Co., Now York
52. Singh, K., Chhuneja, P., Tiwari, V.K., Rawat, N., Neelam, K., Aggarwal, R., Malik, S., Keller, B., Dhaliwal, H.S. (2010.): Mapping of QTL for grain iron and zinc content in diploid A genome wheat and validation of these loci in U and S genomes. In: Pag Conference, San Diego, USA.
53. Singh, S.P., Vogel-Mikus, K., Pelicon, P., Vavpetic, P., Jeromel, L., Feng, R., Chibbar, R., Roy, J.K., Mantri, S.S., Kumar, J., Tuli, R. (2012.): New insights into iron transport from maternal tissues to endosperm in mature wheat seed using synchrotron radiation. Quality Assurance and Safety of Crops & Foods. 4(3):144.
54. Slavin, J.L., Jacobs, D., Marquart, L. (2000.): Grain processing and nutrition. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 40:309-26.
55. Šimić, D., Drinić, S.M., Zdunić, Z., Jambrović, A., Ledenčan, T., Brkić, J., Brkić, A., Brkić, I. (2012.): Quantitative trait loci for biofortification traits in maize grain. Journal of Heredity. 103:47-54.

56. Tagliavini, M., Abadia, J., Rombola, A.D., Abadia, A., Tsipouridis, C., Marangoni, B. (2000.): Agronomic means for the control of iron deficiency chlorosis in deciduous fruit trees. Journal of Plant Nutrition. 23:2007-2022.
57. Tiwari, V.K., Rawat, N., Chhuneja, P., Neelam, K., Aggarwal, R., Randhawa, G.S., Dhaliwal, H.S., Keller, B., Singh, K. (2009.): Mapping of quantitative trait loci for grain iron and zinc concentration in diploid A genome wheat. Journal of Heredity. 100:771-776.
58. 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.
59. von Wirén, N., Römheld, V., Shioiri, T., Marschner, H. (1995.): Competition between microorganisms and roots of barley and sorghum for iron accumulated in the root apoplasm. New Phytologist. 130:511-521.
60. Waters, B.M., Uauy, C., Dubcovsky, J., Grusak, M.A. (2009.): Wheat (*Triticum aestivum*) proteins regulate the translocation of iron, zinc, and nitrogen compounds from vegetative tissues to grain. Journal of Experimental Botany. 60:4263-4274.
61. Welch, R.M., Graham, R.D. (2004.): Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. Journal of Experimental Botany. 55:353-364.
62. 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 Phytologist. 182:49-84.
63. Xu, Y.F., An, D.G., Liu, D.C., Zhang, A.M., Xu, H.G., Li, B. (2012.): Molecular mapping of QTLs for grain zinc, iron and protein concentration of wheat across two environments. Field Crops Research. 138:57-62.
64. Zhao, F.J., McGrath, S.P. (2009.): Biofortification and phytoremediation. Current Opinion in Plant Biology. 12:373–380.
65. Zhao, F.J., Su, Y.H., Dunham, S.J., Rakszegi, M., Bedo, Z., McGrath, S.P., Shewry, P.R. (2009.): Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. Journal of Cereal Science. 49:5-290.

Internetski izvori:

66. http://www.dzs.hr/Hrv_Eng/ljetopis/2014/sljh2014.pdf
67. http://www.savjetodavna.hr/savjeti/15/412/kloroza/
68. http://www.gnojidba.info/mikroelementi/fe-helati/
69. http://wheatpedigree.net/
70. http://www.gnojidba.info/mikroelementi/zeljezo-fe-1-dio/
71. Vukadinović V. (2007.): Ishrana bilja - Mikroelementi http://ishranabilja.com.hr/literatura/ishrana_bilja/Mikroelementi.pdf

8. SAŽETAK

Pšenica je biljka koja se uzgaja širom svijeta. Globalno, ona je najvažnija zrnata biljka koja se koristi za ljudsku prehranu i druga je na ljestvici ukupne proizvodnje prinosa žitarica odmah iza kukuruza. Zrna žitarica su važan izvor željeza za ljude, ali njegova bioraspoloživost iz zrna žitarica je niska. Jedan od načina povećanja koncentracije Fe u jestivim dijelovima biljke je biofortifikacija, koja ovisno o pristupu problemu i načinu rješavanja problema niske akumulacije Fe može biti agronomska i/ili genetska. Cilj ovoga istraživanja je bio utvrditi razlike u usvajanju željeza u zrno sorata pšenice obzirom na različito podrijetlo. Istraživanje je provedeno na 20 sorata pšenice. Koncentracija željeza u zrnu pšenice izmjerena je na ICP-OES uređaju. Prosječna koncentracija željeza u čitavom uzorku iznosila je 41,13 ± 9,5 mg kg^{-1}. Čitav uzorak podijeljen je u pet skupina s obzirom na podrijetlo sorata (Hrvatska, Mađarska, Austrija, Njemačka i Češka). Uspoređujući skupine najvišu prosječnu koncentraciju željeza imala je skupina hrvatskih sorata pšenice (48,37 ± 15,42 mg kg^{-1}), dok je najnižu koncentraciju imala skupina mađarskih sorata (35,87 ± 3,87 mg kg^{-1}). Prosječna koncentracija željeza kod skupine austrijskih sorata iznosila je 44,56 ± 10,68 mg kg^{-1}, kod skupine njemačkih sorata bila je 37,11 ± 4,91 mg kg^{-1} i kod čeških sorata iznosila je 39,85 ± 0,75 mg kg^{-1}. Veza između koncentracije željeza u zrnu pšenice i podrijetla ispitivana je Spearmanovim (r_s) koeficijentom korelacije, pri čemu nije utvrđena statistički značajna veza između ispitivanih svojstava r_s = - 0,05 (p = 0,82; n = 20).

9. SUMMARY

Wheat is a plant grown all around the world. Globally, it is the most important cereal that is used for human consumption and ranking second in total production of crop yields just behind maize. Cereal grains are an important source of iron for humans, but iron bioavailability in cereal grains is low. One way to increase concentration of Fe in the edible plant parts is biofortification that can be, regarding the approach to problem, agronomic or genetic. The aim of this study was to determine differences in the iron grain accumulation in different wheat cultivar originating from different countries. The study was conducted on 20 wheat cultivars. The concentration of iron in wheat grain was using ICP-OES. The average concentration of iron in the sample (n = 20) was 41.13 ± 9.5 mg kg^{-1}. The genotypes were divided into five groups according to country of origin (Croatia, Hungary, Austria, Germany and the Czech Republic). The highest concentration of iron was measured in a group of Croatian cultivars (48.37 ± 15.42 mg kg^{-1}), while the lowest concentration was in group of Hungarian cultivars (35.87 ± 3.87 mg kg^{-1}). The average iron concentration in a group of Austrian cultivars was 44.56 ± 10.68 mg kg^{-1}, in German group was 37.11 ± 4.91 mg kg^{-1}, and in the group of Czech cultivars 39.85 ± 0.75 mg kg^{-1}. The relationship between grain iron concentration and wheat origin was tested by Sperman's (r_s) correlation coefficient. Where no significant correlation was found (r_s = -0.05; p = 0.82; n = 20).

10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Sorta, rodoslovlje, godina priznavanja i podrijetlo pšenice

Tablica 2. Koncentracije željeza (mg kg^{-1}) u zrnu

Tablica 3. Sorte prema podrijetlu

Tablica 4. Aritmetička sredina (mg kg^{-1}), standardna devijacija (mg kg^{-1}), medijana (mg kg^{-1}) i koeficijent varijacije (%) za skupine sorata pšenice različitog podrijetla

11. POPIS SLIKA

Slika 1. Pšenica u punoj zriobi (foto original: M. Kesedžić)

Slika 2. Dobiveni uzorak brašna (foto original: M. Kesedžić)

Slika 3. Dodavanje destilirane vode (foto original: M. Brica)

Slika 4. Optima 2100 DV (foto original: M. Brica)

Slika 5. Box - plot dijagram za koncentraciju Fe u zrnu 20 ispitivanih sorata pšenice

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

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

Razlike u usvajanju željeza u zrno Srednjoeuropske germplazme pšenice

Marina Brica

Sažetak:

Pšenica je biljka koja se uzgaja širom svijeta. Globalno, ona je najvažnija zrnata biljka koja se koristi za ljudsku prehranu i druga je na ljestvici ukupne proizvodnje prinosa žitarica odmah iza kukuruza. Zrna žitarica su važan izvor željeza za ljude, ali njegova bioraspoloživost iz zrna žitarica je niska. Jedan od načina povećanja koncentracije Fe u jestivim dijelovima biljke je biofortifikacija, koja ovisno o pristupu problemu i načinu rješavanja problema niske akumulacije Fe može biti agronomska i/ili genetska. Cilj ovoga istraživanja je bio utvrditi razlike u usvajanju željeza u zrno sorata pšenice obzirom na različito podrijetlo. Istraživanje je provedeno na 20 sorata pšenice. Koncentracija željeza u zrnu pšenice izmjerena je na ICP-OES uređaju. Prosječna koncentracija željeza u čitavom uzorku iznosila je 41,13 ± 9,5 mg kg^{-1}. Čitav uzorak podijeljen je u pet skupina s obzirom na podrijetlo sorata (Hrvatska, Mađarska, Austrija, Njemačka i Češka). Uspoređujući skupine najvišu prosječnu koncentraciju željeza imala je skupina hrvatskih sorata pšenice (48,37 ± 15,42 mg kg^{-1}), dok je najnižu koncentraciju imala skupina mađarskih sorata (35,87 ± 3,87 mg kg^{-1}). Prosječna koncentracija željeza kod skupine austrijskih sorata iznosila je 44,56 ± 10,68 mg kg^{-1}, kod skupine njemačkih sorata bila je 37,11 ± 4,91 mg kg^{-1} i kod čeških sorata iznosila je 39,85 ± 0,75 mg kg^{-1}. Veza između koncentracije željeza u zrnu pšenice i podrijetla ispitivana je Spearmanovim (r_s) koeficijentom korelacije, pri čemu nije utvrđena statistički značajna veza između ispitivanih svojstava r_s = - 0,05 (p = 0,82; n = 20).

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Mentor: doc.dr.sc. Andrijana Rebekić
Broj stranica: 32
Broj grafikona i slika: 5
Broj tablica: 4
Broj literaturnih navoda: 71
Broj priloga:
Jezik izvornika: Hrvatski
Ključne riječi: pšenica, podrijetlo, koncentracija željeza
Datum obrane:
Stručno povjerenstvo za obranu:
1. doc.dr.sc. Sonja Petrović, predsjednik
2. doc.dr.sc. Andrijana Rebekić, 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

Variability in grain iron accumulation of Middle European wheat germplasm

Marina Brica

Abstract:

Wheat is a plant grown all around the world. Globally, it is the most important cereal that is used for human consumption and ranking second in total production of crop yields just behind maize. Cereal grains are an important source of iron for humans, but iron bioavailability in cereal grains is low. One way to increase concentration of Fe in the edible plant parts is biofortification that can be, regarding the approach to problem, agronomic or genetic. The aim of this study was to determine differences in the iron grain accumulation in different wheat cultivar originating from different countries. The study was conducted on 20 wheat cultivars. The concentration of iron in wheat grain was using ICP-OES. The average concentration of iron in the sample (n = 20) was 41.13 ± 9.5 mg kg^{-1}. The genotypes were divided into five groups according to country of origin (Croatia, Hungary, Austria, Germany and the Czech Republic). The highest concentration of iron was measured in a group of Croatian cultivars (48.37 ± 15.42 mg kg^{-1}), while the lowest concentration was in group of Hungarian cultivars (35.87 ± 3.87 mg kg^{-1}). The average iron concentration in a group of Austrian cultivars was 44.56 ± 10.68 mg kg^{-1}, in German group was 37.11 ± 4.91 mg kg^{-1}, and in the group of Czech cultivars 39.85 ± 0.75 mg kg^{-1}. The relationship between grain iron concentration and wheat origin was tested by Sperman's (r_s) correlation coefficient. Where no significant correlation was found (r_s = -0.05; p = 0.82; n = 20).

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek
Mentor: doc.dr.sc. Andrijana Rebekić
Number of pages: 32
Number of figures: 5
Number of tables: 4
Number of references: 71
Number of appendices:
Original in: Croatian
Key words: wheat, origin, the concentration of iron
Thesis defended on date:
Reviewers:

1. doc.dr.sc. Sonja Petrović, chairman
2. doc.dr.sc. Andrijana Rebekić, 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