

# **Sortna varijabilnost u koncentracijama mikroelemenata i fitata u zrnu ozime pšenice**

---

**Lončarić, Paula**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2018**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:162102>

*Rights / Prava:* [In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-04-26**



**ODJELZA  
BIOLOGIJU  
Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

ODJEL ZA BIOLOGIJU

Diplomski sveučilišni studij Biologija; smjer: znanstveni

**Paula Lončarić**

**Sortna varijabilnost u koncentracijama mikroelemenata i  
fitata u zrnu ozime pšenice**

Diplomski rad

Osijek, 2018.

## **TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

**Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**

**Odjel za biologiju**

**Diplomski sveučilišni studij Biologija; smjer: znanstveni**

**Znanstveno područje:** Prirodne znanosti

**Znanstveno polje:** Biologija

**Sortna varijabilnost u koncentracijama mikroelemenata i fitata u zrnu ozime pšenice**

Paula Lončarić

**Rad je izrađen u:** Laboratoriju za biokemiju na Odjelu za biologiju i Laboratoriju za ishranu bilja i fiziologiju bilja na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku

**Mentor:** dr. sc. Ivna Štolfa Čamagajevac, docent, Odjel za biologiju

**Komentor:** dr.sc. Andrijana Rebekić, docent, Poljoprivredni fakultet u Osijeku

**Kratak sažetak:** Pšenica pripada u grupu „velike trojke“ žitarica i uzgaja se u više od 120 zemalja. Najbolji pokazatelj kvalitete zrna pšenice je koncentracija i bioraspoloživost mikroelemenata cinka (Zn), željeza (Fe) i kadmija (Cd). Budući da fitat (PA) prisutan u zrnu pšenica kelira navedene minerale, upravo je molarni omjer PA/Zn i PA/Fe dobar pokazatelj njihove bioraspoloživosti. Ovim istraživanjem utvrđena je sortna specifičnost u akumulaciji Fe, Zn, Cd i PA u zrnu pšenice. Sorte s najboljim karakteristikama u pogledu bioraspoloživosti Zn i Fe su hrvatska sorta Tena i japanska Saitama 27. Koncentracije Cd u svim istraživanim sortama su bile ispod maksimalno dopuštenih vrijednosti. S obzirom da je niska bioraspoloživost elemenata kod većine istraživanih sorti rezultat visoke koncentracije PA, a ne niske koncentracije mikroelemenata, u budućnosti bi glavni cilj oplemenjivača trebao ići u smjeru smanjenja koncentracije PA u zrnu.

**Broj stranica:** 35

**Broj slika:** 14

**Broj tablica:** 1

**Broj literturnih navoda:** 92

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** cink, željezo, kadmij, fitat, bioraspoloživost

**Datum obrane:** 12. 2. 2018.

**Stručno povjerenstvo:**

1. dr.sc. Rosemary Vuković, docent, Predsjednik povjerenstva
2. dr.sc. Ivna Štolfa Čamagajevac, docent, mentor i član
3. dr.sc. Tanja Žuna Pfeiffer, docent, član
4. dr.sc. Dubravka Špoljarić Maronić, docent, zamjena člana

**Rad je pohranjen u:** knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology**

**Graduate university study programme in Biology**

**Scientific Area:** Natural Sciences

**Scientific Field:** Biology

**Genotype variability of winter wheat in microelements and phytate concentration in grain**

Paula Lončarić

**Thesis performed at:** Department of biology, Laboratory for biochemistry and Faculty of Agriculture in Osijek, Laboratory for plant physiology and plant nutrition

**Supervisor:** PhD Ivna Štolfa, assistant professor

**Co-supervisor:** PhD Andrijana Rebekić, assistant professor

**Short abstract:** Wheat belongs to the "big three" cereal crops and it is grown in more than 120 countries. The best indicator of wheat grain quality is the concentration and bioavailability of microelements zinc (Zn), iron (Fe) and cadmium (Cd). Since phytate (PA), present in the wheat grain, acts as a chelator of these minerals, the molar ratio PA/Zn and PA/Fe is a good indicator of their bioavailability. This research has determined the species dependent differences in the accumulation of Fe, Zn, Cd and PA in the wheat grain. Varieties with the best characteristics regarding the bioavailability of Zn and Fe are the Croatian Tena and Japanese Saitama 27. Concentrations of Cd in all investigated varieties were below the maximum permissible values. Given that the low bioavailability of most of the investigated varieties results from a high concentration of PA and not a low concentration of microelements, in the future the main objective of the breeder should be to reduce the concentration of PA in the grain.

**Number of pages:** 36

**Number of figures:** 14

**Number of tables:** 1

**Number of references:** 92

**Original in:** Croatian

**Key words:** zinc, iron, cadmium, phytate, bioavailability

**Date of the thesis defence:** 12. 2. 2018.

**Reviewers:**

1. PhD Rosemary Vuković, Assistant Professor, president
2. PhD Ivna Štolfa Čamagajevac, Assistant Professor, supervisor
3. PhD. Tanja Žuna Pfeiffer, Assistant Professor, reviewer
4. PhD Dubravka Špoljarić Maronić, Assistant Professor, substitute reviewer .

**Thesis deposited in:** the Library of the Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek and in the National and University Library in Zagreb in electronic form. It is also available on the website of the Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek.

*Od srca se zahvaljujem svojoj mentorici, doc.dr.sc. Ivni Štolfa Čamagajevac, na pomoći, razumijevanju, motivaciji i podršci tijekom izrade ovog diplomskog rada. Hvala na svom prenesenom znanju.*

*Hvala Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku, komentorici doc.dr.sc. Andrijani Rebekić te posebice Mihaeli i Ireni sa Zavoda za agroekologiju, na društву i pomoći u radu.*

*Veliko hvala mojim prijateljicama i Mariju na razumijevanju, podršci i kavama tijekom svih ovih godina.*

*Najveće hvala mojoj obitelji, posebice roditeljima, na svoj pruženoj ljubavi i potpori bez koje ništa od ovoga ne bi bilo moguće.*

## Sadržaj

1.	Uvod .....	1
1.1.	Pšenica .....	1
1.2.	Mikronutrijenti u zrnu pšenice .....	2
1.2.1.	Cink (Zn) .....	3
1.2.2.	Željezo (Fe).....	3
1.2.3.	Kadmij (Cd) .....	4
1.3.	Fitatna kiselina (PA).....	5
1.4.	Cilj rada .....	7
2.	Materijali i metode .....	8
2.1.	Odabir genotipova ozime pšenice .....	8
2.2.	Biljni materijal .....	10
2.3.	Laboratorijska analiza biljnog materijala .....	10
2.3.1.	Određivanje koncentracije Zn, Fe i Cd.....	10
2.3.2.	Određivanje koncentracije fitata .....	10
2.4.	Statistička obrada podataka .....	11
3.	Rezultati.....	12
3.1.	Koncentracija cinka u zrnu različitih sorti pšenice .....	12
3.2.	Koncentracija željeza u zrnu različitih sorti pšenice .....	13
3.3.	Koncentracija kadmija u zrnu različitih sorti pšenice .....	14
3.4.	Koncentracija fitata u zrnu različitih sorti pšenice.....	15
3.5.	Omjer fitata prema cinku, željezu i kadmiju u zrnu .....	15
3.5.1.	Molarni omjer fitat/Zn.....	15
3.5.2.	Molarni omjer fitat/Fe .....	16
3.5.3.	Molarni omjer fitat/Cd.....	17
3.6.	Klaster analize koncentracije mikroelemenata i fitata u zrnu ozime pšenice .....	17
3.6.1.	Podjela sorti u klasterne na osnovu koncentracije Zn i omjera fitat/Zn .....	17

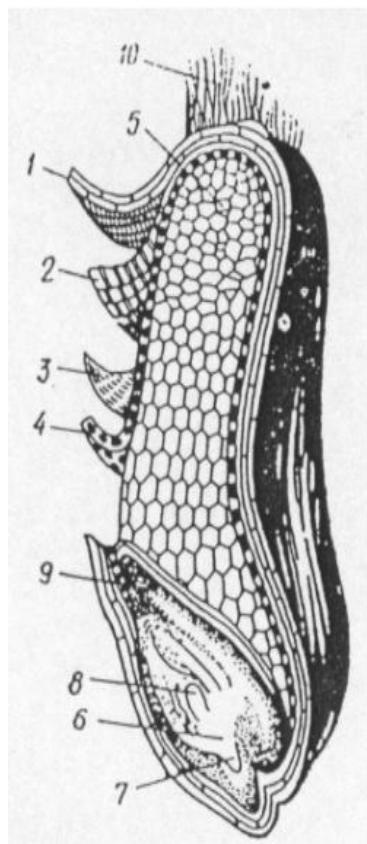
3.6.2.	Podjela sorti u klastere na osnovu koncentracije Fe i omjera fitat/Fe.....	18
3.6.3.	Podjela sorti u klastere na osnovu koncentracije Cd i omjera fitat/Cd .....	19
3.6.4.	Podjela sorti u klastere na osnovu koncentracije Fe, Zn i fitata .....	20
3.6.5.	Podjela sorti u klastere na osnovu koncentracije Fe i Zn te omjera fitat/Fe i fitat/Zn .....	21
4.	Rasprava .....	23
5.	Zaključak .....	28
6.	Literatura.....	29

# **1. Uvod**

## **1.1. Pšenica**

Danas se pšenica uzgaja u više od 120 zemalja, pripada u grupu „velike trojke“ žitarica zajedno s kukuruzom i rižom. Uzgaja se od 67° S u Skandinaviji i Rusiji do 45° J u Argentini, uključujući i povišene tropске i subtropske regije (Shewry, 2009). Zbog svojih pozitivnih karakteristika koje olakšavaju njenu pohranu i izvoz (ne lomi se lako i može se čuvati neodređeno dugo ukoliko se zaštiti od vlage i glodavaca) pšenica se uzgaja na većim površinama u odnosu na druge žitarice te se najviše izvozi (Mitchell i Mielke, 2005). U prehrani čovjeka žitarice predstavljaju gotovo polovinu globalnog unosa kalorija, a oko četvrtina tih kalorija potječe iz pšenice (González-Esteban, 2017).

Pšenica se koristi u raznim industrijama: konditorskoj, prerađivačko-prehrambenoj, farmaceutskoj i pivarskoj te za ishranu stoke. Glavni cilj oplemenjivanja pšenice ide u smjeru poboljšavanja kvalitete samoga zrna pri čemu su glavna svojstva kvalitete zrna fizičke karakteristike zrna, zdravstveno stanje i svježina, kemijski sastav s naglaskom na koncentracije važnih mikronutrijenata kao što su Zn i Fe (Martinčić i Kozumplik, 1996). Zrno je plod pšenice, a može biti različite veličine (krupno, srednje i sitno) ovisno o vrsti i sorti. U klasu se obično razvije oko 30- 40 zrna. Po dužini zrna nalazi se brazdica, a na vrhu bradica, jasno se razlikuju trbušna, leđna i bočna strana. Apsolutna masa zrna je prosječno 35-45 g (web 1). Zrno pšenice (Slika 1) sastoји se od tri dijela: embrija ili klice, škrobastog endosperma te mekinje koja se sastoji od sjemenog omotača (perikarp), sjemenice i vanjskog endosperma (aleuronski sloj). Škrobasti endosperm je spremišno tkivo koje podržava germinaciju i rano kljanje (Tosi i sur., 2011).



Slika 1: Uzdužni presjek zrna pšenice; 1-3. Omotač ploda i sjemena, 4. Aleuronski sloj, 5. Endosperm, 6. Klica, 7. Začetak korjenčića, 8. Pupoljak, 9. Štitic, 10. Brazdica (Izvor: web 1)

## 1.2. Mikronutrijenti u zrnu pšenice

Mikronutrijenti su elementi koji su u malim količinama esencijalni za rast biljke te su uključeni u sve metaboličke i stanične funkcije. Esencijalni elementi za sve više biljke su: bor (B), klor (Cl), bakar (Cu), željezo (Fe), mangan (Mn), molibden (Mo), nikal (Ni) i cink (Zn). Neki su esencijalni za katalitičku aktivnost enzima služeći kao kofaktori metaloenzima, dok ostali imaju strukturu ulogu stabilizirajući proteine (Hänsch i Mendel, 2009). Koncentracije mikronutrijenata u zrnu različitih genotipova pšenice značajno variraju (Oliver i sur., 1995) te je vrlo bitno izabrati najpogodnije sorte pšenice za uzgoj na poljoprivrednim površinama. Danas se u svijetu užgajaju različite sorte pšenice na poljoprivrednim površinama pri čemu je za masovni uzgoj najvažnije utvrditi jesu li te sorte pogodne za masovni uzgoj utvrditi sadržaj značajnih mikronutrijenata i fitata te njihov omjer koji je značajan pokazatelj njihove biorasploživosti.

### **1.2.1. Cink (Zn)**

Zn je jedan od osam elemenata u tragovima koji su esencijalni za normalan rast, razvoj i razmnožavanje biljaka. Važan je kofaktor enzima za sintezu proteina i stvaranje energije te održavanje strukturnog integriteta biomembrana. Većina enzima koji sadrže Zn odgovorna je za transkripciju, translaciju te procesiranje RNA (Kramer i Clemens, 2005). Osim za ekspresiju gena, Zn je važan i za njihovu regulaciju, aktivnost fitohormona, fotosintezu, metabolizam ugljikohidrata, plodnost, produkciju sjemena i obrane od bolesti (Sadeghzadeh, 2013). Zn se u tlu pojavljuje u tri frakcije: 1. Zn topliv u vodi (uključujući  $Zn^{2+}$ ), 2. adsorbirani i izmjenjivi Zn u koloidnoj frakciji (povezan s česticama gline i humusom) i 3. netopivi Zn kompleksi i minerali (Barber, 1995). Na distribuciju Zn u tlu utječu tip tla, vлага tla, sadržaj i vrsta minerala i gline, sadržaj organske tvari, pH vrijednost tla i oborine (Schulte, 1992).

U ranim fazama razvoja i rasta Zn je najvažniji element za biljku, u biljci se uvijek nalazi u  $Zn^{2+}$  obliku. Nedostatak Zn je najrašireniji uzrok smanjenog prinosa i hranjive vrijednosti u poljoprivrednim kulturama, uzrokuje fiziološki stres u biljkama zbog smanjenih metaboličkih procesa u kojima sudjeluje Zn (Kesedžić, 2015). Simptomi nedostatka Zn javljaju se za većinu biljnih vrsta pri razinama nižim od 20-25 mg/kg, a toksičnost pri razinama višim od oko 400 mg/kg (Mengel i Kirkby, 1979). Najkarakterističnije reakcije biljaka pšenice na nedostatak Zn su smanjena visina biljke i veličina lista (Cakmak i sur., 2000). Kako pšenica predstavlja glavnu namirnicu u prehrani ljudi, često nedostatak Zn u zrnu može rezultirati i nedostatkom Zn u prehrani ljudi. To može uzrokovati brojne zdravstvene probleme kao što su smanjeni rast, poremećeni rad imunološkog sustava, povećani rizik od infekcija, oštećenje DNA i razvoj tumora (Gibson, 2006). Na bioraspoloživost Zn važan utjecaj ima i interakcija s antinutrijentima kao što je npr. fitatna kiselina (PA). PA kelira minerale kao što su Zn i Fe te je PA/Zn molarni omjer dobar pokazatelj bioraspoloživosti Zn (Magallanes-López i sur., 2017; Morris i Ellis, 1989).

### **1.2.2. Željezo (Fe)**

Fe je esencijalan mikronutrijent za život kako biljaka, tako i životinja i ljudi. Uključen je u procese fotosinteze, staničnog disanja, asimilaciju dušika, biosintezu hormona (kao što su etilen, gibberelinska kiselina, jasmonska kiselina), proizvodnju i uklanjanje reaktivnih kisikovih spojeva i obranu od patogena (Hänsch i Mendel, 2009). Oko 80% staničnog Fe nalazi se pohranjeno u kloroplastima što potvrđuje njegovu važnu ulogu u fotosintezi.

Fe je teški metal, a u tlu i biljkama nalazi se u obliku dvovalentnog ili trovalentnog kationa ili u odgovarajućim spojevima. U biljkama je uglavnom u Fe(III) oksidacijskom stanju. Biljke usvajaju Fe kao  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  ili u obliku kelata (Vukadinović, 2007). U karbonatnim tlama ne nedostaje Fe, ali visoki pH (Alcantara i sur., 2002) i koncentracija  $\text{HCO}_3^-$  ograničavaju njegovu dostupnost (Ramzani i sur., 2016). Kao i kod Zn, značajnu ulogu u određivanju biorasploživosti Fe imaju antinutrijenti kao što su PA i polifenoli (Gautam i sur., 2010).

Nedovoljan unos Fe hranom pogađa više od dvije milijarde ljudi (WHO, 2011), a u područjima na kojima su žitarice glavni izvor hranjivih tvari uočen je veliki nedostatak mikronutrijenata u organizmu (Cakmak i sur., 2010). Svjetska zdravstvena organizacija procjenjuje da oko 25% svjetske populacije boluje od anemije (WHO, 2010). Nedostatak Fe je rastući zdravstveni problem, procjenjuje se da je gotovo polovica svjetske populacije pogodjena nekakvim nedostatkom Fe. Glavni uzrok toga je neraznolika prehrana i visoka potrošnja hrane na bazi žitarica s vrlo malim količinama Fe niske biorasploživosti (Bouis, 2003), te su zbog toga mnoga istraživanja usmjerena na povećanje sadržaja mikronutrijenata (Fe, Zn) u zrnu žitarica.

### 1.2.3. Kadmij (Cd)

Toksični mikroelement Cd široko je rasprostranjen u poljoprivrednim tlama zbog raznih antropogenih aktivnosti i njegova prisutnost često narušava ravnotežu u ekosustavu (Tyler i sur., 1989). U okolišu se otpušta iz raznih urbanih okruženja, prometa, sustava za zagrijavanje, metalurške industrije, spalionica smeća itd. Može uzrokovati ozbiljne probleme za sve organizme, a njegova bioakumulacija u hranidbenom lancu može biti vrlo opasna. Usjevi žitarica uzgajani na zagađenim tlama odgovorni su za unos oko 70% Cd u organizmu (Rehman i sur., 2015). Biorasploživost Cd u tlu ovisi o svojstvima tla (pH vrijednost tla, izmjena kationa, prisutnost drugih metala u tlu) i biljke (vrsta biljke, građa korijenovog sustava te razvojni stadij) (Gallego i sur., 2012). Manje je pokretan u tlu nego u vodi i zraku, a glavni čimbenici koji reguliraju apsorpciju i distribuciju Cd u tlu su pH, sadržaj otopljene organske tvari, sadržaj i vrsta gline, metalni hidroksidi, prisutnost organskih i anorganskih liganada te ostali konkurentni metalni ioni (OECD, 1994). Utvrđeno je da Cd u suvišku ometa germinaciju, fotosintetsku i antioksidacijsku aktivnost enzima te smanjuje rast i prinos (Gao i sur., 2011). Također ometa i unos esencijalnih nutrijenata kao što su Zn, Fe i Mn (Murtaza i sur., 2017).

Cd može imati štetan utjecaj na ljudsko zdravlje, a u tijelo ulazi na tri načina: 1. preko probavnog sustava, 2. preko dišnog sustava, 3. preko kože. Uzrokuje pojavu brojnih respiratornih bolesti (pneumonitis, uništavanje mukoznih membrana), proteinuriju, pojavu bubrežnih kamenaca, glomeluralna i tubularna oštećenja, nekrozu testisa, inhibiciju biosinteze progesterona (Rahimzadeh, 2017). Najviša koncentracija Cd apsorbira se u bubrežima, u prosjeku se 30 mg Cd unese u organizam kroz djetinjstvo i adolescenciju. Ukupna količina Cd u tijelu povećava se starenjem do oko 20 mg u pedesetim godinama života (Drčić, 2014). Upravo zbog njegovog štetnog djelovanja na zdravlje ljudi, velik broj znanstvenih istraživanja usmjereno je na pronalaženje različitih načina smanjivanja udjela Cd u tlu i usjevima. Zbog svoje sličnosti u kemijskoj građi s Cd, primjena Zn u tlo ili folijarnim putem može rezultirati smanjenjem unosa Cd i to je jedna od učinkovitih metoda za smanjenje sadržaja Cd u biljkama (Rizwan i sur., 2016). Rebekić i Lončarić (2014) u svome istraživanju navode da se biljne vrste i različiti genotipovi iste vrste značajno razlikuju u usvajanju i akumulaciji Zn i Cd i njihovom međusobnom odnosu u zrnu, pri čemu on može biti sinergističan ili antagonističan, što određuje interakcija genotipa i koncentracije raspoloživih Zn i Cd.

### **1.3. Fitatna kiselina (PA)**

Fitatna kiselina ili mio-inozitol heksafosfat je skladišni oblik fosfora (P) u zrnu. Posebno je zastupljena u žitaricama gdje čini oko 70-90% ukupnog P u cijelom zrnu, ovisno o genotipu biljke (O'Dell i sur., 1972). Više od 90% PA u zrnu nalazi se u aleuronskom sloju (Pomeranz, 1990). PA čini približno 1-2% mase zrna, no može doseći i visoke vrijednosti od 3-6% (Febles i sur., 2002), no tipičan udio PA u zrnu žitarica iznosi od 0.5-2% (Hidvegi i Lasztity, 2002). U zrnu, P se najčešće pojavljuje u obliku fitata pomiješanih s kalcijevim i magnezijevim solima fitatne kiseline (Lolas i Markakis, 1975). Količina PA ovisi i o aktivnosti fitaza (porodica fosfataza koje imaju *in vitro* mogućnost da otpuste bar jedan fosfat iz PA). Fitaze svojim djelovanjem smanjuju sadržaj inozitolnih fosfata i potencijalno kelatiranih minerala. Mnogim životinjama, uključujući i ljude, nedostaje ovaj enzim u probavnom traktu, zato hidroliza PA ovisi o mukozalnim i bakterijskim enzimima ili neenzimatskoj hidrolizi pomoći gastrointestinalne kiselosti (Bohn i sur., 2008).

PA stupa u interakcije s proteinima, vitaminima i mineralima te tako smanjuje njihovu bioraspoloživost zbog čega PA pripada skupini antinutrijenata (Elkhalil i sur., 2000). Zbog svoje kelatne prirode kompleksira različite minerale ( $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ , itd.) te ih čini nedostupnima u prehrani ljudi (Gargari i sur., 2007). S proteinima stvara komplekse čineći ih manje topljivima te utječe na enzimsku degradaciju, apsorpciju u želucu i pivarskom procesu

(Dai i sur., 2007). Međutim, pokazalo se da PA ima i brojne pozitivne učinke na ljudsko zdravlje, ima antioksidacijsko i protuupalno djelovanje te ima ulogu u skladištenju energije (Talamond i sur., 2000). Također, ima značajnu ulogu u smanjenju količine biomarkera karakterističnih za razvoj raka debelog crijeva (Jenab i Thompson, 1998).

Zbog negativnog djelovanja fitata na raspoloživost važnih elemenata u tragovim kao što su Zn i Fe, brojna istraživanja napravljena su s ciljem smanjenja količine PA u žitaricama i samim time povećanja njihove nutritivne vrijednosti (Cheryan i Rackis, 1980; Bohn i sur., 2008; Larson i sur., 1998; Raboy, 2001). Tretman Zn može značajno smanjiti koncentraciju P u zrnu što rezultira smanjenjem koncentracije PA u zrnu i PA/Zn molarnog omjera (Kaya i sur., 2009).

#### **1.4. Cilj rada**

S obzirom da sortna specifičnost ima značajnu ulogu u akumulaciji Cd, Zn i Fe u zrnu pšenice, važno je odabrati sorte s najboljim karakteristikama koje će se koristiti za uzgoj na poljoprivrednim površinama. Upravo stoga cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj sortne specifičnosti pšenice na akumulaciju mikroelemenata Cd, Zn i Fe u zrnu te izdvojiti sorte pšenice s visokim potencijalom akumulacije Fe i Zn, niskim potencijalom akumulacije Cd te niskim omjerima fitat/Zn i fitat/Fe.

## 2. Materijali i metode

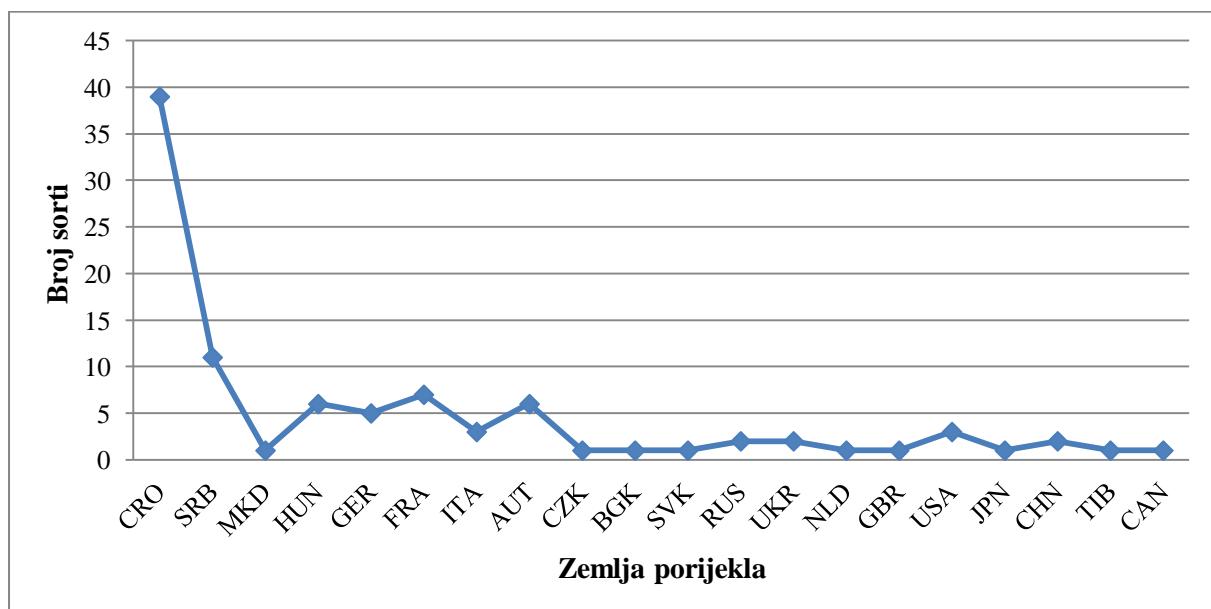
### 2.1. Odabir genotipova ozime pšenice

Istraživanje je obuhvatilo 94 sorte (Tablica 1) ozime pšenice izabrane za sjetvu u 2014./2015. godini. Od izabranih sorata ozime pšenice 39 sorti su hrvatske, a preostalih 55 je introducirano u Hrvatsku iz drugih europskih zemalja: jedanaest iz Srbije, sedam iz Francuske, šest iz Mađarske i Austrije, pet iz Njemačke, tri iz Italije, dvije iz Rusije i Ukrajine, po jedna iz Makedonije, Češke, Bugarske, Slovačke, Nizozemske i Velike Britanije; četiri iz Sjeverne Amerike: tri iz SAD-a i jedna iz Kanade; te četiri iz Azije: jedna iz Japana, jedna iz Tibeta i dvije iz Kine (Slika 2). Osnovni kriterij za odabir hrvatskih sorata bila je zastupljenost sorte u proizvodnji na području Republike Hrvatske. Odabrane su i sorte koje su poslužile kao roditelji u križanjima pri stvaranju nekih od najzastupljenijih sorti u Hrvatskoj. Introducirane sorte su izabrane kako bi se mogla napraviti usporedba hrvatskih i stranih sorti s obzirom na ispitivana svojstva.

Tablica 1. Zemlje porijekla izabranih sorti pšenice

SORTA	ZEMLJA PORIJEKLA	SORTA	ZEMLJA PORIJEKLA
ANA	CRO	SUPER ZLATNA	SRB
BARBARA	CRO	ZVEZDANA	SRB
BC PATRIA	CRO	SKOPJANKA	MKD
BIANCA	CRO	MV 10	HUN
DEMETRA	CRO	MV 12	HUN
DIVANA	CRO	MV BÉRES	HUN
ESTERA	CRO	MV GARMADA	HUN
FIESTA	CRO	MV MAGDALÉNA	HUN
GABI	CRO	MV VILMA	HUN
GOLUBICA	CRO	AREZZO	ITA
ILIRIJA	CRO	LIBELULA	ITA
KATARINA	CRO	SAN PASTORE	ITA
KLARA	CRO	EUROFIT	AUT
KRUNA	CRO	EXKLUSIV	AUT
LENTA	CRO	JUSTUS	AUT
LUCIJA	CRO	LUDWIG	AUT
MIA	CRO	SW MAXI	AUT
MIHAELA	CRO	Y075 8583	AUT
MIHELCA	CRO	ALTOS	GER
MONIKA	CRO	DEKAN	GER
MURA	CRO	GORBI	GER
NEVENA	CRO	HERZOG	GER
NIKA	CRO	ORESIST	GER
OSJEČKA 20	CRO	AEROBIC	FRA
OSJEČKA CRVENKA	CRO	APACHE	FRA
RENATA	CRO	ENESCO	FRA
RUŽICA	CRO	FESTIVAL	FRA

SANA	CRO	MAGISTRAL	FRA
SEKA	CRO	RENAN	FRA
SIRBAN PROLIFIK	CRO	SOISSONS	FRA
SNAŠA	CRO	EXCELSIOR	CZK
SRPANJKA	CRO	JUBILEJNSJS 50	BGK
SUPERŽITARKA	CRO	VANDA	SVK
TENA	CRO	AVRORA	RUS
U1	CRO	BEZOSTAJA	RUS
VULKAN	CRO	PRIMA ODESSKAYA	UKR
ZLATNA DOLINA	CRO	UKRAINKA	UKR
ŽITARKA	CRO	RESIDENCE	NLD
CRVENKAPA	SRB	BEAVER	GBR
LJILJANA	SRB	ATLAS 66	USA
MAKSIMA	SRB	FLORIDA	USA
NESSA (NS68-01)	SRB	PURDUE 5392	USA
NS 408/00	SRB	SAITAMA 27	JPN
RENESANSA	SRB	TOM THUMB	TIB
SIMONIDA	SRB	GLENLEA	CAN
SLAVIJA	SRB	CHINESE SPRING	CHN
SREMICA	SRB	CHING-CHANG 6	CHN



Slika 2. Porijeklo sorti ozime pšenice.

## **2.2. Biljni materijal**

Istraživanje je obuhvatilo analizu zrna pšenice 94 sorte ozime pšenice. 15 g zrna svake sorte usitnjeno je do finog praha u „heavy metal free“ mlinu te su čuvana na sobnoj temperaturi do biokemijskih analiza.

## **2.3. Laboratorijska analiza biljnog materijala**

Laboratorijska analiza provedena je na Zavodu za agroekologiju Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku te na Zavodu za biokemiju i ekofiziologiju biljaka Odjela za biologiju u Osijeku. Laboratorijskom analizom određeni su sljedeći parametri u zrnu: 1. koncentracija Zn, 2. koncentracija Fe, 3. koncentracija Cd, 4. koncentracija fitata.

### **2.3.1. Određivanje koncentracije Zn, Fe i Cd**

Uzorci zrna razoreni su pomoću mokrog postupka, mješavinom vodikovog peroksida ( $H_2O_2$ ) i dušične kiseline ( $HNO_3$ ) i to mikrovalnom tehnikom (Kingston i Jassie, 1986). U kivete za razaranje je odvagano 1 g brašna i preliveno s 2 mL 30% (w/v)  $H_2O_2$  i 9 mL 65% (w/v) otopine  $HNO_3$ . Uzorci su zatim razoreni u mikrovalnoj pećnici, a nakon toga je ohlađena otopina uzorka profiltrirana kroz dvostruki filter papir u odmjeru tkivicu od 50 mL. Tikvica s uzorkom je zatim nadopunjena s deioniziranom vodom do mjerne oznake. Koncentracije elemenata u otopini uzorka zrna određeni su direktnim mjeranjem pomoću ICP-OES (inducirana spregnuta plazma- optička emisijska spektrometrija) i izražene kao  $\mu\text{g/mL}$ , a rezultati analize preračunati su u koncentraciju Zn, Fe i Cd u mg/kg suhe tvari biljnog materijala.

### **2.3.2. Određivanje koncentracije fitata**

Sadržaj PA određen je prema postupku kojeg su opisali Haugh i Lantzsch (1983). Ova metoda temelji se na vezanju dodanog Fe pomoću PA nakon čega slijedi određivanje nevezanog slobodnog Fe pomoću 2,2-bipiridina. Prema ovoj metodi se 50 mg uzorka pšenice ekstrahira s 10 mL 0.2 M HCl u miješalici 1 sat na sobnoj temperaturi. Zatim se 0.5 mL ekstrakta pomiješa s 1 mL kisele amonijeve željezo III sulfatne otopine poznatog sadržaja Fe u epruvetama sa staklenim čepovima. Epruvete se kuhaaju u vrućoj vodenoj kupelji tijekom 30 minuta. Nakon 15 min hlađenja u ledenoj kupelji, epruvete se ostave kako bi dosegla sobna temperatura. Zatim se 2 mL otopine 2,2-bipiridin dodaje u reakcijsku smjesu nakon čega se pojavljuje svjetlo ružičasto obojenje. Apsorbancija je mjerena pri 519 nm, a standardna krivulja je izrađena s poznatim koncentracijama PA. Koncentracija PA je izražena u mg PA/kg suhe tvari, a sve analize izvedene su u četiri replike.

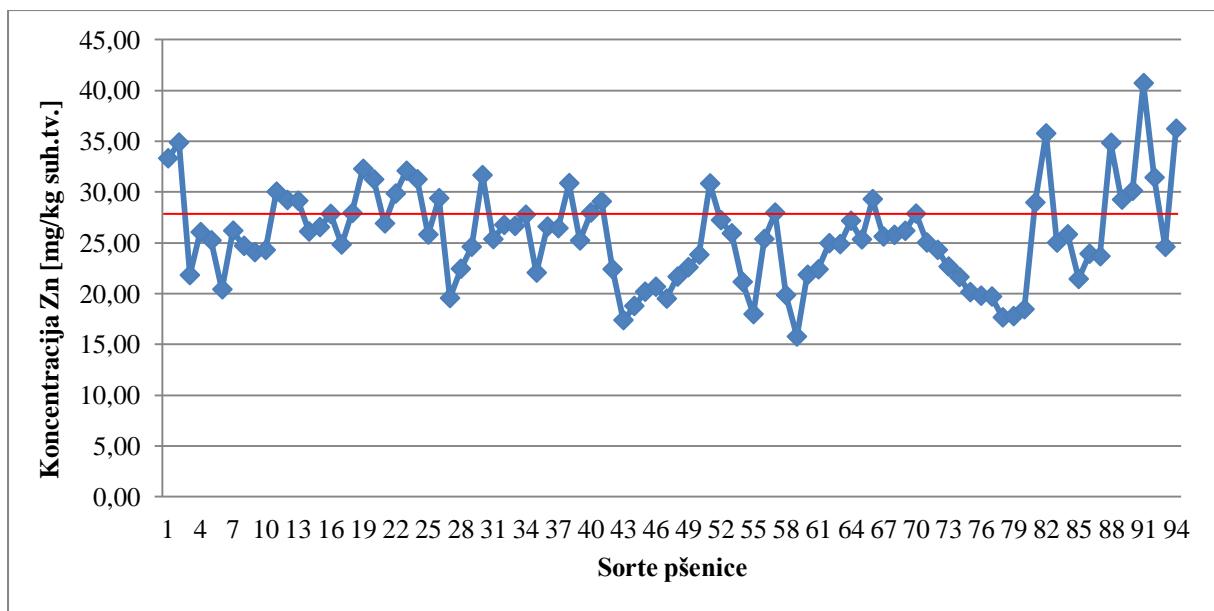
## **2.4. Statistička obrada podataka**

Statistička obrada podataka napravljena je softverskim paketom Microsoft Excel, izračunate su srednje te maksimalne i minimalne vrijednosti. Napravljena je i klaster analiza koristeći programski paket Enterprise Guide 5.1. SAS sustava za Windows (Copyright© 2012 by SAS Institute Inc., Cary, NC, USD, All Rights Reserved). Korelacijskom analizom ispitana je međuvisnost elemenata (Zn, Fe i Cd o fitatu i omjerima fitat/Fe, fitat/Zn i fitat/Cd). Na osnovu hijerarhijske klaster analize (Hierarchical Cluster Analysis), sorte su svrstane u 5 klastera koji najbolje pokazuju razlike između mjerenih vrijednosti.

### 3. Rezultati

#### 3.1. Koncentracija cinka u zrnu različitih sorti pšenice

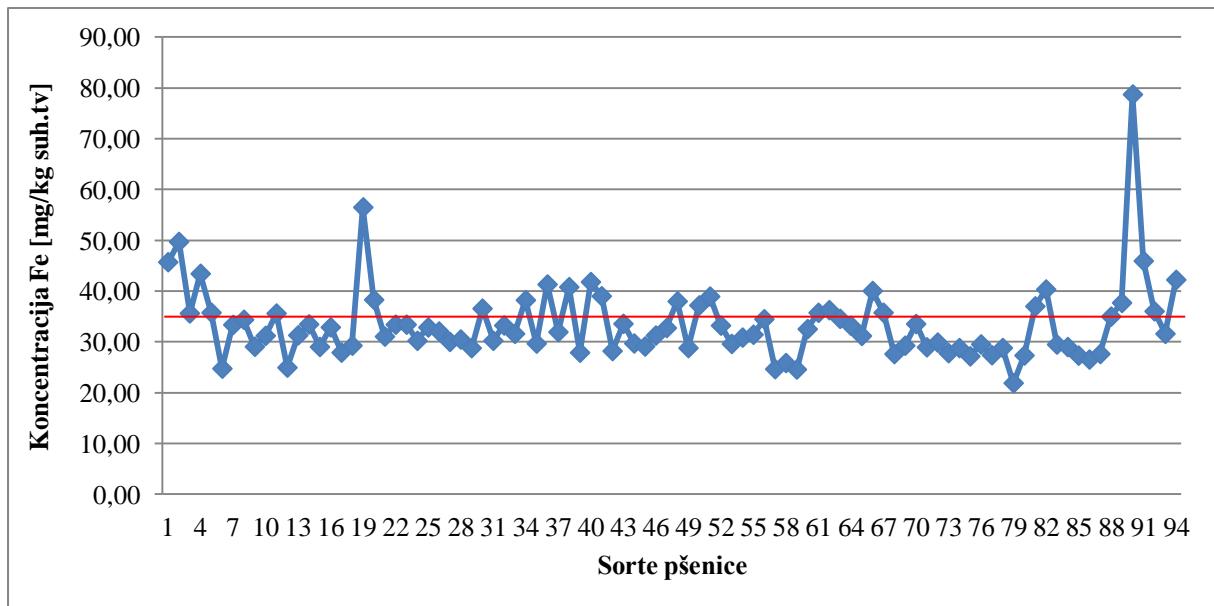
Srednja vrijednost koncentracije Zn u zrnu pšenice iznosila je 25,66 mg/kg suh. tv. pri čemu je minimalna vrijednost izmjerena u zrnu talijanske sorte Arezzo (15,75 mg/kg suh.tv.), a maksimalna kod tibetanske sorte Tom Thumb (40,70 mg/kg suh.tv.). Kod 46 sorti izmjerena je koncentracija Zn iznad, a kod 49 sorti ispod srednje vrijednosti svih izmjerenih koncentracija (Slika 3).



Slika 3. Koncentracije Zn u zrnu 94 sorte ozime pšenice, crvena linija označava srednju vrijednost izmjerenih koncentracija Zn svih uzoraka.

### 3.2. Koncentracija željeza u zrnu različitih sorti pšenice

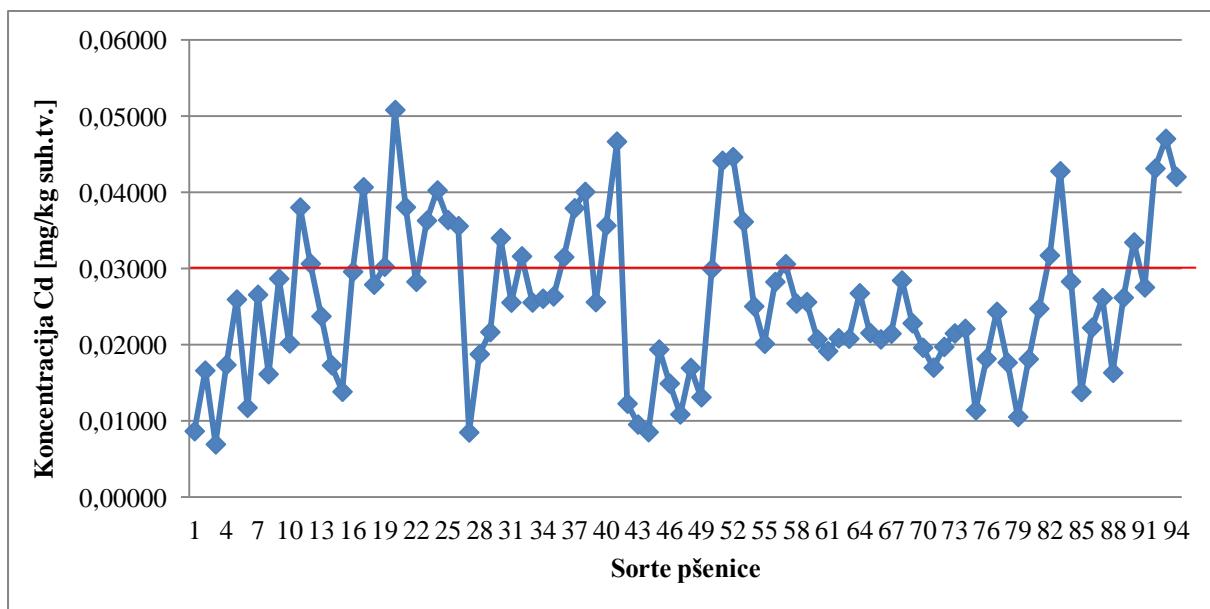
Srednja vrijednost koncentracije Fe u zrnu pšenice iznosila je 33,42 mg/kg suh.tv., minimalna izmjerena vrijednost je u zrnu bugarske sorte Jubilejnsjs 50 i iznosila je 21,90 mg/kg suh.tv., a maksimalna je iznosila 78,74 mg/kg suh.tv. i izmjerena je kod japanske sorte Saitama 27. Kod 35 sorti izmjerena je koncentracija Fe iznad srednje vrijednosti, a kod 59 ispod srednje vrijednosti koncentracija (Slika 4).



Slika 4. Koncentracija Fe u zrnu 94 sorte pšenice, crvena linija označava srednju vrijednost izmjerjenih koncentracija Fe svih uzoraka.

### 3.3. Koncentracija kadmija u zrnu različitih sorti pšenice

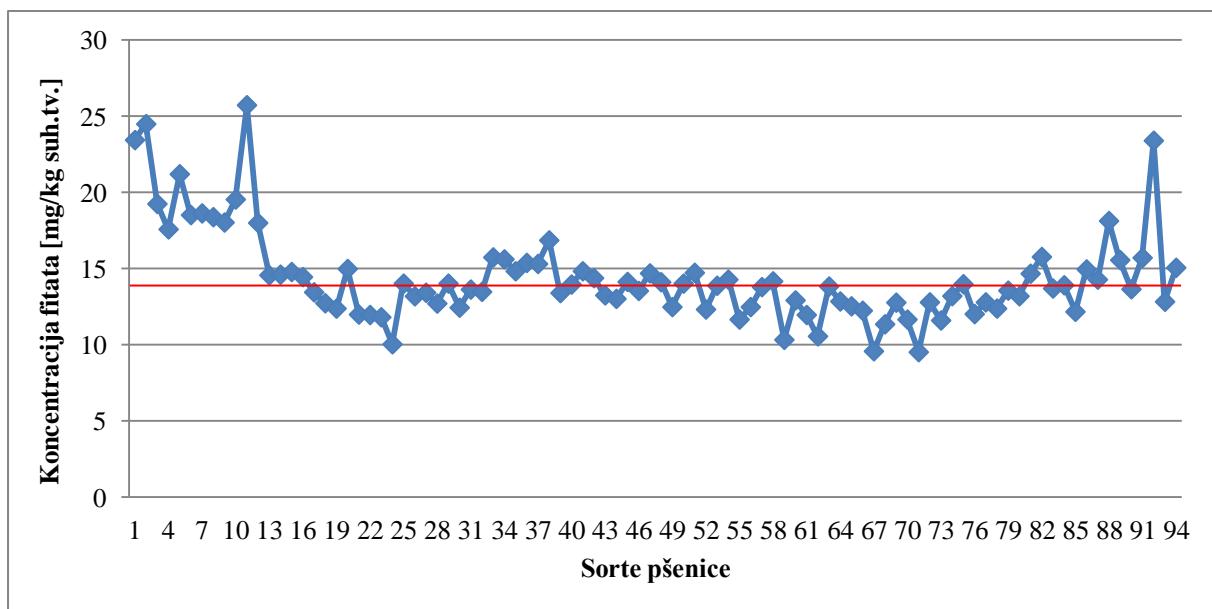
Srednja vrijednost koncentracije Cd u zrnu pšenice iznosila je 0,03 mg/kg suh.tv., minimalna izmjerena vrijednost bila je u zrnu hrvatske sorte Osječka crvenka i iznosila 0,00696 mg/kg suh.tv., a maksimalna je iznosila 0,05085 mg/kg suh.tv. i izmjerena je kod hrvatske sorte Snaša. Kod 27 sorti izmjerena je koncentracija Cd iznad srednje vrijednosti, a kod 67 ispod srednje vrijednosti koncentracija (Slika 5).



Slika 5. Koncentracija Cd u zrnu 94 sorte pšenice, crvena linija označava srednju vrijednost izmjerjenih koncentracija Cd svih uzoraka.

### 3.4. Koncentracija fitata u zrnu različitih sorti pšenice

Srednja vrijednost koncentracije PA u zrnu pšenice iznosila je 14,43 mg/kg suh.tv., minimalna izmjerena vrijednost bila je u zrnu francuske sorte Aerobic i iznosila 9,53 mg/kg suh.tv., a maksimalna je iznosila 25,74 mg/kg suh.tv. i izmjerena je kod hrvatske sorte Ilirija . Kod 34 sorte izmjerena je koncentracija PA iznad srednje vrijednosti, a kod 60 ispod srednje vrijednosti koncentracija (Slika 6).



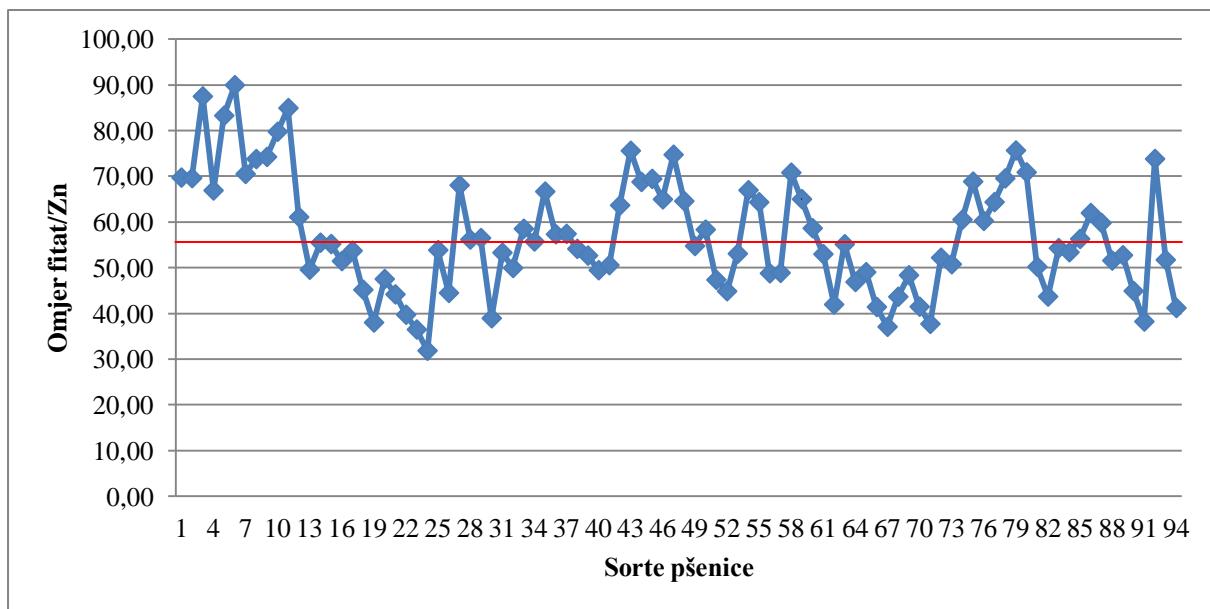
Slika 6. Koncentracija fitata u zrnu 94 sorte pšenice, crvena linija označava srednju vrijednost izmjerjenih koncentracija PA svih uzoraka.

### 3.5. Omjer fitata prema cinku, željezu i kadmiju u zrnu

Prosječna vrijednost omjera fitat/Zn je bila 56,94 (raspon 31,88-89,97), omjera fitat/Fe 37,47 (14,68-63,31) te omjera fitat/Cd 117 517 (42 482-471 283).

#### 3.5.1. Molarni omjer fitat/Zn

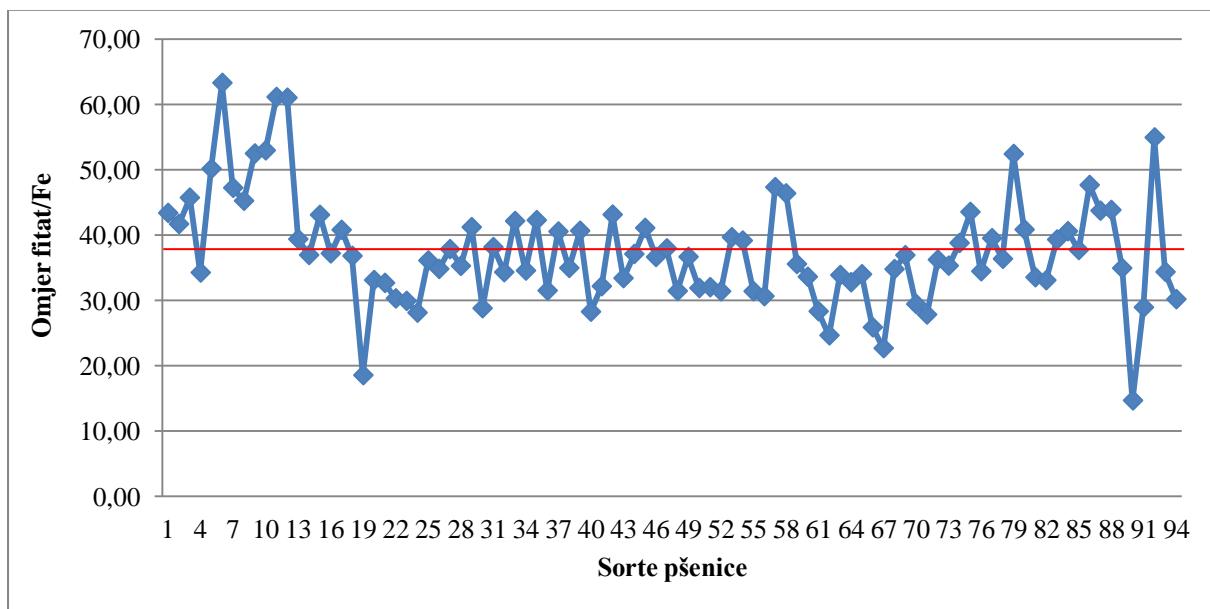
Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) omjer PA/Zn  $>15$ ,  $5-15$  i  $<5$  se može protumačiti kao bioraspoloživost Zn koja je niska (10-15%), umjerena (30-35%) i visoka (50-55%) (WHO, 1996; Gargari i sur, 2007). Srednja vrijednost molarnog omjera PA/Zn iznosi 56,94, minimalna 31,88 kod hrvatske sorte Vulkan, a maksimalna 89,97 kod hrvatske sorte Srpanjka. 40 sorti imalo je veći omjer od srednje vrijednosti, a preostalih 54 manji (Slika 7).



Slika 7. Molarni omjer PA/Zn u zrnu 94 sorte pšenice, crvena linija označava srednju vrijednost omjera svih uzoraka.

### 3.5.2. Molarni omjer fitat/Fe

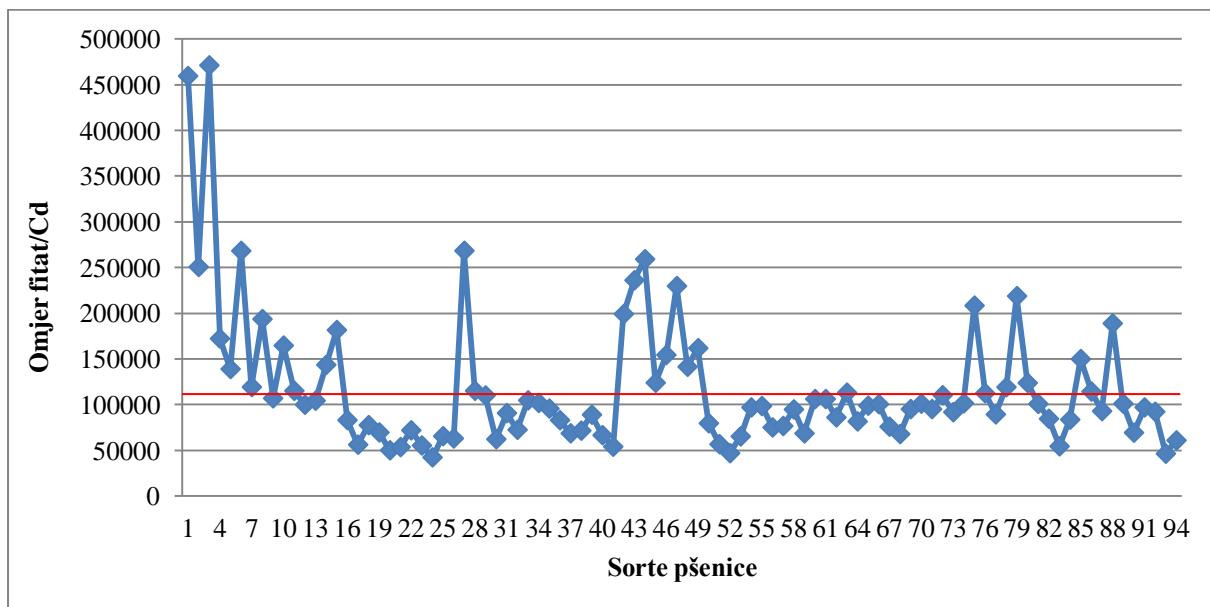
Srednja vrijednost molarnog omjera PA/Fe iznosi 37,47, najmanja vrijednost 14,68 je izmjerena kod japanske sorte Saitama 27, a najveća 63,31 kod hrvatske sorte Srpanjka. 40 sorti imalo je veći omjer od srednje vrijednosti, a preostalih 54 manji (Slika 8).



Slika 8. Molarni omjer PA/Fe u zrnu 94 sorte pšenice, crvena linija označava srednju vrijednost svih uzoraka.

### 3.5.3. Molarni omjer fitat/Cd

Za razliku od Fe i Zn, za Cd je poželjno da ima što veći omjer fitat/Cd. Srednja vrijednost molarnog omjera PA/Cd iznosila je 117 517, najmanji omjer iznosi 42 482 kod hrvatske sorte Vulkan, a najveći 471 283 kod hrvatske sorte Osječka crvenka. 26 sorti imalo je veći omjer od srednje vrijednosti, a preostalih 68 manji (Slika 9).



Slika 9. Molarni omjer fitata prema kadmiju u zrnu 94 sorte pšenice, crvena linija označava srednju vrijednost svih uzoraka.

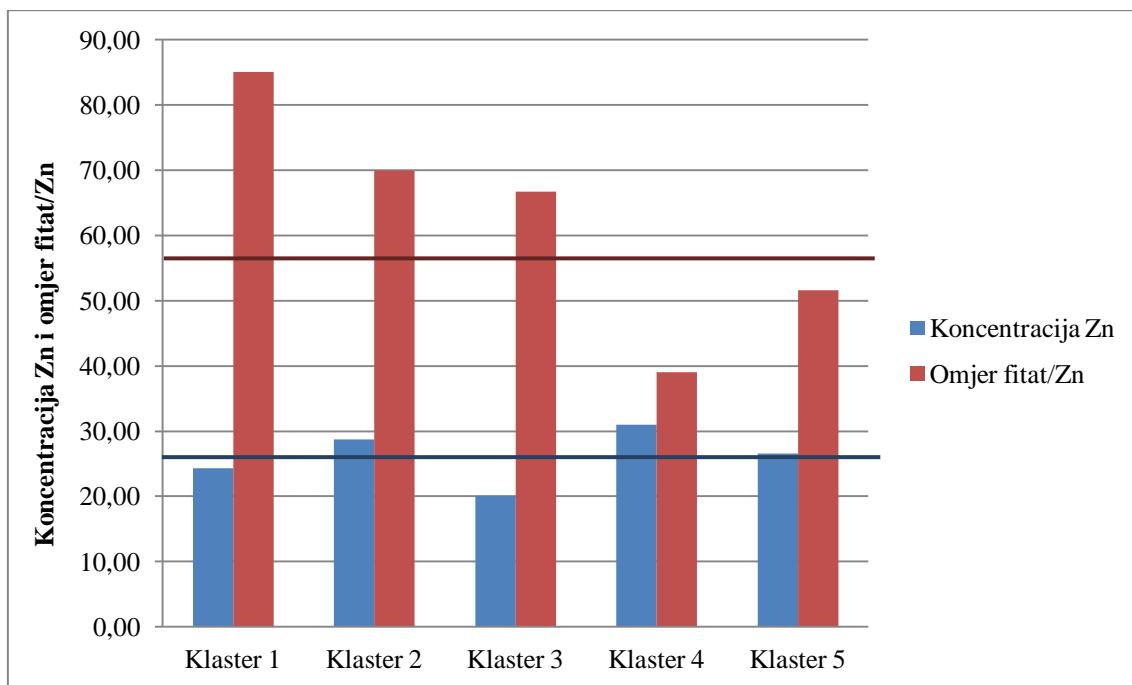
### 3.6. Klaster analize koncentracije mikroelemenata i fitata u zrnu ozime pšenice

Na osnovu hijerarhijske klaster analize (Hierarchical Cluster Analysis) ispitivane sorte svrstane su u 5 grupa na osnovu koncentracije Fe i omjera fitat/Fe, koncentracije Zn i omjera PA/Zn, koncentracije Cd i omjera PA/Cd.

#### 3.6.1. Podjela sorti u klastere na osnovu koncentracije Zn i omjera fitat/Zn

Uzimajući u obzir koncentraciju Zn u zrnu i omjer PA prema Zn, izabrane sorte podijeljene su u 5 klastera (Slika 10). Klaster 1 čini 5 članova, hrvatske sorte Osječka crvenka, Žitarka, Srpanjka, Renata i Ilirija, te imaju koncentraciju Zn malo ispod srednje vrijednosti (24,34 mg/kg suh.tv., srednja vrijednost je 25,66 mg/kg suh.tv.) i omjer PA/Zn veći od srednje vrijednosti (85,11, srednja vrijednost je 56,94). Klaster 2 čini 8 članova s koncentracijom Zn većom od srednje vrijednosti (28,71 mg/kg suh.tv.), kao i omjerom PA/Zn (69,99). Klaster 3 čine 23 člana i imaju koncentraciju Zn nižu od srednje vrijednosti (20,05

mg/kg suh.tv.) i omjer PA/Zn veći od srednje vrijednosti (66,73). Klaster 3 bi se mogao izdvojiti kao klaster koji sadrži najlošije sorte s obzirom na mjerene parametre, zajedno s klasterom 1. Klaster 4 čini 13 članova s koncentracijom Zn većom od srednje vrijednosti (30,95 mg/kg suh.tv.) te nižim omjerom PA/Zn (39,09). Klaster 5 čini 45 članova i ima koncentraciju Zn malo iznad srednje vrijednosti (26,60 mg/kg suh.tv.) te omjer PA/Zn niži od srednje vrijednosti (51,64). Klasteri 4 i 5 mogu se izdvojiti kao klasteri koji sadrže sorte s najboljim koncentracijama Zn i omjerima PA/Zn.

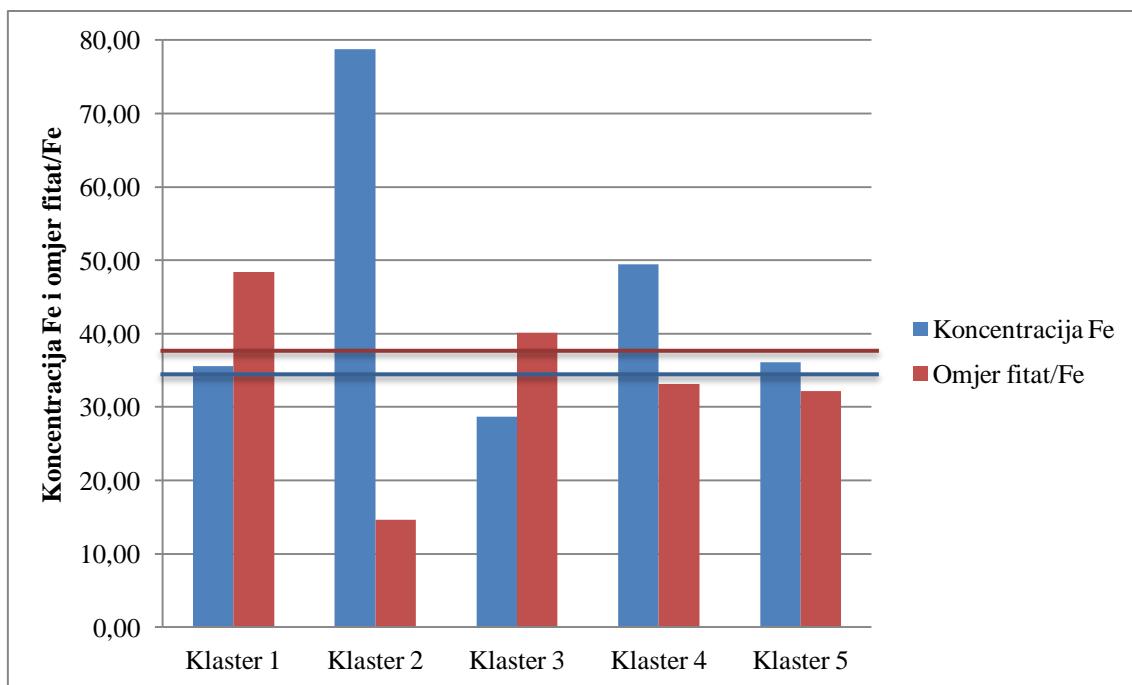


Slika 10. Klaster analiza 94 sorte na osnovu koncentracije Zn i omjera PA/Zn. Plava linija označava srednju vrijednost koncentracije Zn, a crvena srednju vrijednost omjera PA/Zn.

### 3.6.2. Podjela sorti u klastere na osnovu koncentracije Fe i omjera fitat/Fe

Uzimajući u obzir koncentraciju Fe u zrnu i molarni omjer PA prema Fe, ispitivane sorte podijeljene su u 5 klastera (Slika 11). Klaster 1 čini 9 članova (sorti) koji imaju koncentraciju Fe u zrnu veću od srednje vrijednosti (35,61 mg/kg suh.tv., srednja vrijednost je 33,42 mg/kg suh.tv.), ali također im je i omjer PA/Fe iznad srednje vrijednosti (48,40, prosjek je 37,47), a poželjno je da je taj omjer što manji. Klaster 2 sadrži samo jednog člana, to je japanska sorta Saitama 27, kod nje je izmjerena koncentracija Fe više nego dvostruko veća od srednje vrijednosti (78,74 mg/kg suh.tv.) te također nizak omjer PA/Fe (14,68). Klaster 3 čini 46 članova, to su lošije sorte koje imaju nižu koncentraciju Fe od srednje vrijednosti (28,65

mg/kg suh.tv.) i veći omjer PA/Fe (40,09). Klaster 4 čine 4 člana, sorte Sirban Prolifik, U1, Tena i Tom Thumb, one imaju koncentraciju Fe veću od srednje vrijednosti (49,47 mg/kg suh.tv.) te omjer PA/Fe malo ispod srednje vrijednosti (33,15). Klaster 5 čine 34 člana s koncentracijom Fe malo iznad srednje vrijednosti (36,08 mg/kg suh.tv.) i omjerom PA/Fe ispod srednje vrijednosti (32,22). Na osnovu ovih parametara, sorta Saitama 27 izdvaja se kao najbolja sorta, nakon nje slijede sorte iz Klastera 4.

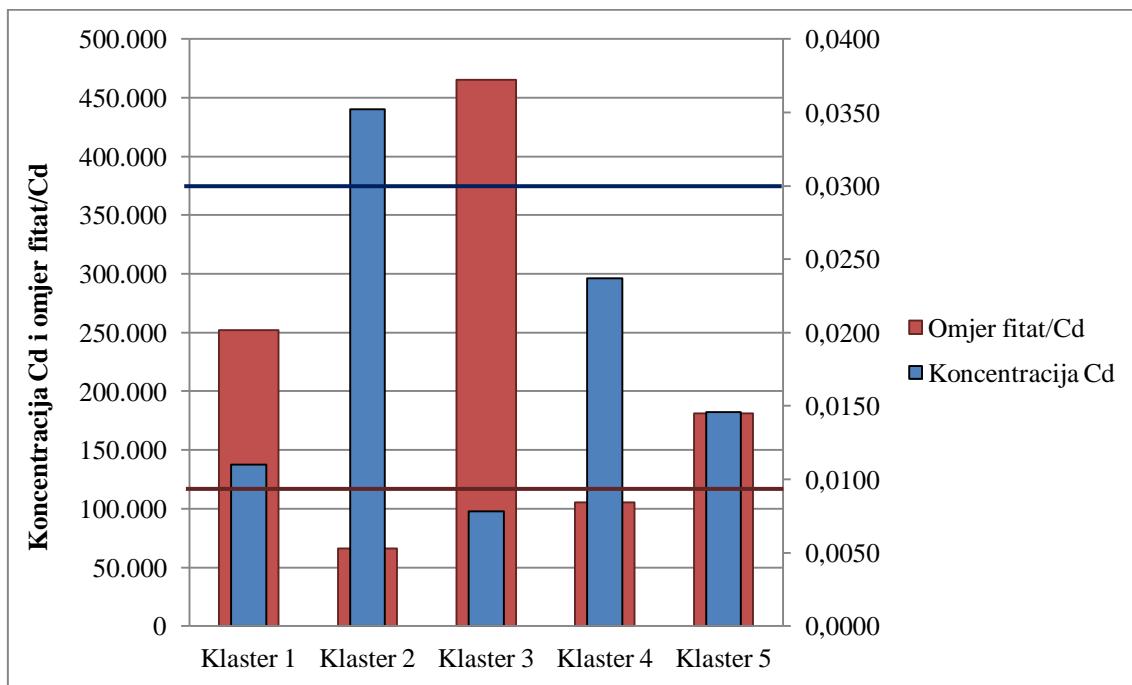


Slika 11. Klaster analiza 94 sorte na osnovu koncentracije Fe i omjera PA/Fe. Plava linija označava srednju vrijednost koncentracije Fe, a crvena omjer PA/Fe.

### 3.6.3. Podjela sorti u klastere na osnovu koncentracije Cd i omjera fitat/Cd

Gledajući koncentraciju Cd u zrnu i omjer PA/Cd, sorte su podijeljene u 5 klastera (Slika 12). Poželjno je da su koncentracije Cd što manje, a omjer PA/Cd što veći. Klaster 1 čini 6 članova s koncentracijom Cd nižom od srednje vrijednosti (0,0110 mg/kg suh.tv., srednja vrijednost je 0,0300 mg/kg suh.tv.) i većim omjerom PA/Cd od srednje vrijednosti (252 153, srednja vrijednost je 117 517). Klaster 2 čine 33 člana s koncentracijom Cd malo iznad srednje vrijednosti (0,0352 mg/kg suh.tv.) i omjerom PA/Cd nižim od srednje vrijednosti (66 038). Klaster 3 čine samo dva člana, hrvatske sorte Sirban Prolifik i Osječka crvenka, te imaju koncentraciju Cd gotovo 4 puta nižu od srednje vrijednosti (0,0078 mg/kg suh.tv.), a omjer PA/Cd također gotovo 4 puta iznad srednje vrijednosti (645 430). Klaster 4

čine 42 člana s koncentracijom Cd ispod srednje vrijednosti (0,0237 mg/kg suh.tv.), ali i nižim omjerom PA/Cd (105 458). Klaster 5 čini 11 članova i ima koncentraciju Cd ispod srednje vrijednosti (0,0146 mg/kg suh.tv.) i omjer PA/Cd iznad srednje vrijednosti (181 307). Na osnovu ovih parametara izdvaja se Klaster 3 kao klaster s najboljim sortama, a Klaster 5 je odmah iza njega. Najlošija svojstva imaju sorte iz Klastera 2.

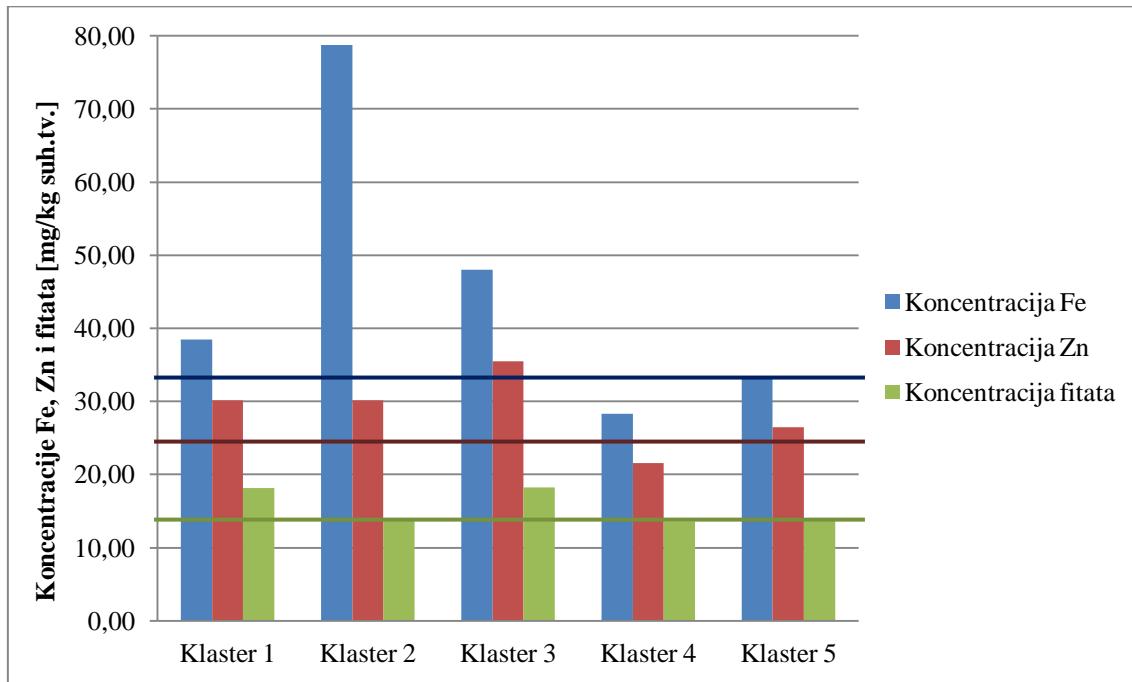


Slika 12. Klaster analiza 94 sorte na osnovu koncentracije Cd i omjera PA/Cd. Plava linija označava srednju vrijednost koncentracije Cd, a crvena omjera PA/Cd.

### 3.6.4. Podjela sorti u klastere na osnovu koncentracije Fe, Zn i fitata

Uzimajući u obzir koncentracije Fe, Zn i PA, sorte su podijeljene u 5 klastera (Slika 13). Klaster 1 čini 11 članova s koncentracijama Fe (38,48 mg/kg suh.tv., srednja vrijednost je 33,42 mg/kg suh.tv.), Zn (30,18 mg/kg suh.tv., srednja vrijednost je 25,66 mg/kg suh.tv.) i PA (18,13 mg/kg suh.tv., srednja vrijednost je 14,43 mg/kg suh.tv.) većim od srednje vrijednosti. Klaster 2 čini jedan član, japanska sorta Saitama 27, koncentracija Fe je veća od srednje vrijednosti (78,74 mg/kg suh.tv.), kao i koncentracija Zn (30,11 mg/kg suh.tv.), dok je koncentracija PA niža (13,66 mg/kg suh.tv.). Klaster 3 čini 5 članova, to su hrvatske sorte Sirban Prolifik, U1 i Tena te tibetanska sorta Tom Thumb i kineska sorta Chineese spring, one imaju koncentracije Fe (48,03 mg/kg suh.tv.), Zn (35,46 mg/kg suh.tv.) i PA (18,23 mg/kg suh.tv.) veće od srednje vrijednosti. Klaster 4 čine 34 člana s koncentracijama Fe (28,28 mg/kg suh.tv.), Zn (21,58 mg/kg suh.tv.) i fitata (13,57 mg/kg suh.tv.) ispod srednje

vrijednosti. Klaster 5 čine 43 člana s prosječnom koncentracijom Fe (33,44 mg/kg suh.tv.), koncentracijom Zn malo iznad srednje vrijednosti (26,49 mg/kg suh.tv.) te nižom koncentracijom PA (13,74 mg/kg suh.tv.).

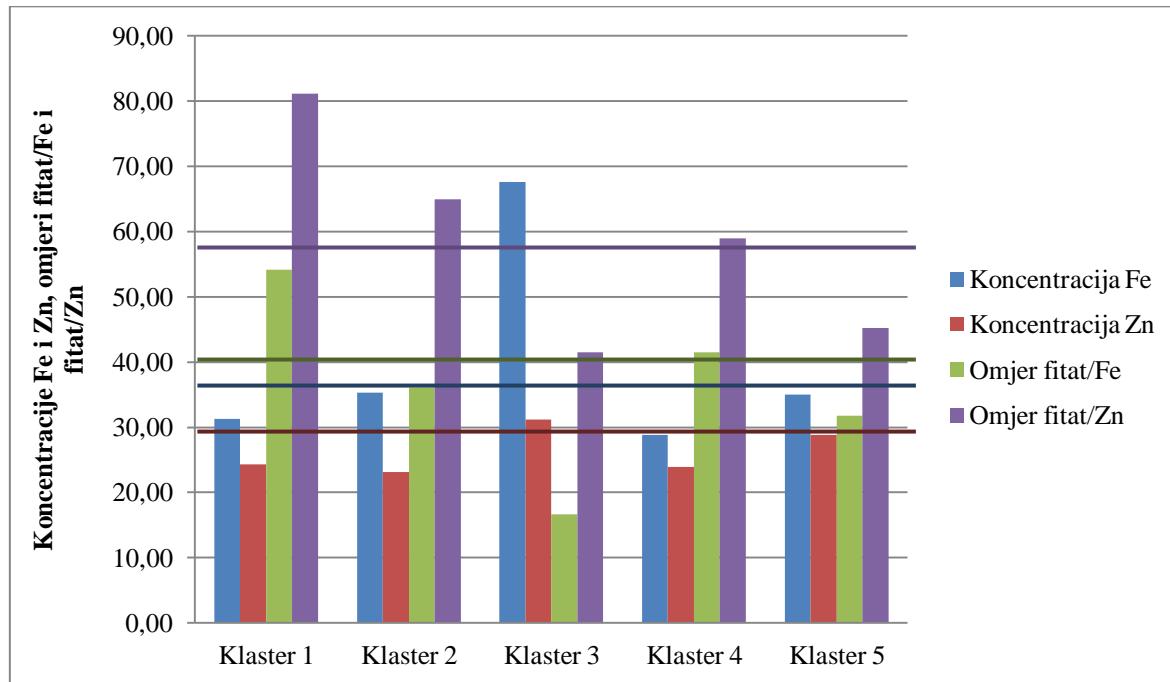


Slika 13. Klaster analiza 94 sorte na osnovu koncentracija Fe, Zn i PA. Plava linija označava srednju vrijednost koncentracije Fe, crvena Zn, a zelena PA.

### 3.6.5. Podjela sorti u klastere na osnovu koncentracije Fe i Zn te omjera PA/Fe i PA/Zn

S obzirom na koncentracije Fe i Zn te omjere PA/Fe i PA/Zn, sorte su podijeljene u 5 klastera (Slika 14). Klaster 1 čini 8 članova s koncentracijama Fe (32,25 mg/kg suh.tv., srednja vrijednost je 33,42 mg/kg suh.tv.) i Zn (24,37 mg/kg suh.tv., srednja vrijednost je 25,66 mg/kg suh.tv.) malo nižim od srednje vrijednosti te omjerima PA/Fe (54,15, srednja vrijednost je 37,47) i PA/Zn (81,17, srednja vrijednost je 56,94) većim od srednje vrijednosti. Klaster 2 čini 20 članova s koncentracijom Fe većom od srednje vrijednosti (35,33 mg/kg suh.tv.), nižom koncentracijom Zn (23,19 mg/kg suh.tv.) te nižim omjerom PA/Fe (36,14) i većim omjerom PA/Zn (64,95). Klaster 3 čine 2 člana, hrvatska sorta Tena i japanska sorta Saitama 27, one imaju koncentracije Fe (67,63 mg/kg suh.tv.) i Zn (31,19 mg/kg suh.tv.) veće od srednje vrijednosti i niže omjere PA/Fe (16,61) i PA/Zn (41,49). Klaster 4 čini 31 član s koncentracijama Fe (28,81 mg/kg suh.tv.) i Zn (23,91 mg/kg suh.tv.) nižim od srednje

vrijednosti te većim omjerima PA/Fe (41,47) i PA/Zn (58,94). Klaster 5 čine 33 člana s koncentracijama Fe i Zn malo iznad srednje vrijednosti (35,05 mg/kg suh.tv. i 28,79 mg/kg suh.tv.) te nižim omjerima PA/Fe (31,74) i PA/Zn (45,27).



Slika 14. Klaster analiza 94 sorte na osnovu koncentracije Fe i Zn i omjera PA/Fe i PA/Zn.  
Plava linija označava srednju vrijednost koncentracije Fe, crvena Zn, zelena omjera PA/Fe, a  
ljubičasta omjera PA/Zn.

#### **4. Rasprava**

Svjetska proizvodnja žitarica u porastu je zbog povećane potražnje za hranom uzrokovanim porastom ljudske populacije. Unazad nekoliko desetljeća, glavni cilj uzbudjivača bio je povećati prinos žitarica, no često je povećanje prinosa rezultiralo smanjenjem koncentracije mikroelemenata u zrnu (Welch i Graham, 1999). Tijekom godina je također smanjena genetička predispozicija modernih vrsta za primanje elemenata te je važan cilj uzbudjivača i oplemenjivača pronaći kultivare s najpoželjnijim genima pri čemu je jedan od najboljih pokazatelja kvalitete pšenice koncentracija mikroelemenata i fitata u zrnu (Murphy i sur., 2008).

Koncentracija Zn izmjerena u ispitivanim sortama kretala se u rasponu od 15,8 do 40,7 mg/kg suhe tvari (Slika 3). Slične vrijednosti koncentracije Zn izmjerene su i u dosadašnjim istraživanjima: 25,2-53,3 mg/kg (Graham i sur., 1999), 16,4-39,5 mg/kg (Oury i sur., 2006) te 16,2-32,4 mg/kg (Liu i sur., 2006). Razlike u akumulaciji rezultat su genetičke varijabilnosti između različitih sorti pšenice u pogledu akumulacije Zn (Ficco i sur., 2009). Glavni cilj biofortifikacije je postići zadovoljavajuću koncentraciju Zn u zrnu pšenice koja iznosi od 40 do 60 mg/kg suhe tvari. U ovom istraživanju samo se jedna od ispitivanih sorti pšenice, Tom Thumb, nalazila na donjoj granici vrijednosti poželjne koncentracije (40,7 mg/kg suhe tvari). Uz nju, još 16 sorti imalo je koncentraciju Zn veću od 30 mg/kg suhe tvari (Slika 3). Od 39 hrvatskih sorti, njih čak 26 ima koncentraciju Zn iznad srednje vrijednosti (25,66 mg/kg suh.tv.), sorta U1 ima najveću koncentraciju Zn (34,85 mg/kg suh.tv.). Uz nju, još osam hrvatskih sorti ima koncentraciju Zn>30 mg/kg suh.tv., to su Sirban Prolifik, Tena, Monika, Kruna, Vulkan, Snaša, Divana i Ilirija.

Fe je sastavni dio brojnih proteina i enzima važnih za život. Preporučene dnevne količine Fe kreću se u rasponu od 10-15 mg za odrasle osobe (Herbert, 1987). Nedostatak Fe uzrokuje smanjeni prijenos kisika u stanice, što rezultira umorom i narušenim imunitetom (Bhaskaram, 2001). Čak oko 80% svjetske populacije pati od nekog oblika nedostatka Fe, a 30% boluje od anemije uzrokovane nedostatkom Fe (Stolzfus, 2001). Koncentracija Fe u zrnu ispitivanih sorti bila je prosječno 33,42 mg/kg suh.tv. (raspon od 21,90 do 78,74 mg/kg suh.tv.) (Slika 4). U prijašnjim istraživanjima izmjereni su slični rasponi: 28,8-56,5 mg/kg (Graham i sur., 1999), 19,0-88,4 mg/kg (Oury i sur., 2006), 22,9-67,6 mg/kg (Liu i sur., 2000) i 10-51 mg/kg (Cakmak i sur., 2000). Koncentracija koja se želi postići biofortifikacijom je, kao i kod Zn, 40-60 mg/kg (Gao i sur., 2011). 12 sorti ima koncentraciju Fe veću od 40 mg/kg suh.tv., za razliku od Zn gdje samo jedna sorta ima veću koncentraciju. Daleko najveću

koncentraciju Fe ima japanska sorta Saitama 27 (78,74 mg/kg suh.tv.), a nakon nje hrvatska sorta Tena (56,61 mg/kg suh.tv.). Od 39 hrvatskih sorti, 16 ima koncentraciju Fe iznad srednje vrijednosti (33,42 mg/kg suh.tv.). Najveću koncentraciju ima već spomenuta sorta Tena, nju slijedi sorta U1 (49,71 mg/kg suh.tv.) koja ima i najveću koncentraciju Zn od svih hrvatskih sorti. Osim Tene i U1, još četiri sorte imaju koncentraciju  $Fe > 40$  mg/kg suh.tv., to su redom Sirban Prolifik, Osječka 20, Nevena i Divana.

Za povećan unos mikronutrijenata iz zrna pšenice u organizam nije bitna samo njihova koncentracija, već i količina koja se može apsorbirati (Frontela i sur., 2009). Osim same koncentracija Zn i Fe u zrnu važan pokazatelj njihove bioraspoloživosti je i molarni omjer PA/Zn i PA/Fe pri čemu PA veže na sebe mikroelemente kao što su Zn i Fe te tako sprječava njihovu apsorpciju i smanjuje njihovu bioraspoloživost (Khan i sur., 2007). Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) molarni omjer PA/Zn  $> 15$ , 5-15 i  $< 5$  ukazuje na bioraspoloživost Zn u zrnu koja je niska (10-15%), umjerena (30-35%) i visoka (50-55%) (WHO, 1996; Gargari i sur., 2007). Srednja vrijednost koncentracija PA u svim ispitivanim uzorcima bila je 14,43 mg/kg suh. tv. (od 9,53 do 25,74 mg/kg suh. tv.) (Slika 6), a srednja vrijednost omjera PA/Zn bila je 56,94 (od 31,88 do 89,97) (Slika 7). Kod nijedne sorte nije utvrđen omjer PA/Zn manji od 15, pri čemu je najmanji omjer utvrđen kod hrvatske sorte Vulkan (31,88) što ukazuje na to da je bioraspoloživost Zn kod svih istraživanih sorti niska. Sorta Vulkan također je razvrstana, zajedno sa sortom Tom Thumb, u Klaster 4. Klaster analizom s obzirom na koncentraciju Zn i omjer PA/Zn, sorta Tom Thumb svrstana je u Klaster 4 zajedno s još 12 sorti (Slika 10). Taj klaster karakterizirala je iznadprosječna koncentracija Zn i povoljan omjer PA/Zn te se za njega može reći da sadrži najbolje sorte s obzirom na navedena svojstva. Njega slijedi Klaster 5 s malo boljim svojstvima od srednje vrijednosti, u njega je svrstana i japanska sorta Saitama 27 koja se pokazala najboljom u drugim parametrima kao što su koncentracija Fe i omjer PA/Fe (Slika 11). Sorta Saitama 27 izabrana je jer se njen gen za neosjetljivost na GA, nakon što je inkorporiran u talijansku sortu Orlandi 1947., proširio po Europi (Worland i Petrović, 1988). Ta sorta pokazala se zanimljivom i na osnovu naših rezultata, u klaster analizi na osnovu koncentracije Fe i omjera PA/Fe čini zaseban klaster (Klaster 2) (Slika 11), kao i u podjeli na osnovu koncentracije Fe, Zn i PA (Klaster 2) (Slika 13). S obzirom na koncentracije Zn i Fe te omjerima PA/Zn i PA/Fe također je izdvojena i sa sortom Tena čini Klaster 3 (Slika 14). Upravo visoka koncentracija Fe izdvojila ju je od ostalih sorti te je ona, na osnovu ovog istraživanja, najbolja za komercijalni uzgoj. Kod te sorte je jedino i utvrđen omjer PA/Fe  $< 15$ , a kod sorte Tena  $< 20$ .

Dobiveni rezultati ukazuju na vrlo nisku bioraspoloživost Fe i Zn u ispitivanim sortama zbog visokih koncentracija PA, što znači da se u dalnjim istraživanjima ne treba nužno ići na povećanje koncentracija Fe i Zn, već samo na smanjenje koncentracije fitata budući da gotovo polovica ispitivanih sorti ima iznadprosječne koncentracije i Zn i Fe. Također treba uzeti u obzir da su Fe i Zn u pozitivnoj umjerenoj korelaciji ( $r=0,55$ ) te da povećanjem koncentracije Zn raste i koncentracija Fe. Takva korelacija vidljiva je u rezultatima, sorte Saitama 27 i Tena imaju najveće koncentracije Fe (78,74 i 56,51 mg/kg suh.tv.) kao i iznadprosječnu koncentraciju Zn (30,11 i 32,26 mg/kg suh.tv.). Također i sorta s najviše Zn (Tom Thumb, 40,70 mg/kg suh.tv.) ima i iznadprosječnu koncentraciju Fe (45,95 mg/kg suh.tv.). U skladu s time u dobroj pozitivnoj korelaciji su i omjeri PA/Fe i PA/Zn ( $r=0,79$ ). Pozitivna korelacija označava proporcionalnost vrijednosti. 16 hrvatskih sorti ima omjere PA/Zn i PA/Fe niže od srednje vrijednosti (56,94 i 37,47). Najmanji omjer PA/Zn ima već spomenuta sorta Vulkan, a kod još 4 hrvatske sorte zabilježen je omjer PA/Zn<40, to su redom Monika, Tena, Kruna i Klara. Tena ima najmanji omjer PA/Fe (18,55), a kod još tri sorte zabilježen je omjer PA/Fe<30, to su redom Vulkan, Kruna i Monika. Od navedenih hrvatskih sorti, samo Tena ima značajniju koncentraciju Fe u zrnu, dok Kruna ima koncentraciju malo iznad srednje vrijednosti (36,57 mg/kg suh.tv., srednja vrijednost je 33,42 mg/kg suh.tv.), Monika prosječnu (33,42 mg/kg suh.tv.), a Vulkan nižu (30,23 mg/kg suh.tv.). Ovakvi rezultati pokazuju da je bioraspoloživost mikroelemenata, a ne njihova koncentracija, ograničavajući faktor u njihovoj apsorpciji u organizam.

Cd je toksičan, kancerogen i teratogen mikroelement koji nema nikakvu biološku ulogu u živim organizmima (Rebekić i Lončarić, 2016). Koncentracija Cd u tlu neprestano se povećava zbog antropogenog djelovanja: prerade Zn i Cu, izgaranja fosilnih goriva, primjene otpadnih voda u poljoprivredi (Eđed, 2012) te takva kontaminirana tla predstavljaju potencijalan problem za poljoprivredu. Biljke teške metale usvajaju prvenstveno putem korijena, no moguće je i usvajanje putem lista, ali u manjoj mjeri (Godzik, 1993). 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 su Cd i Zn. Pravilnikom su određene i maksimalno dopuštene količine (MDK) izražene u mg/kg u tlima različite teksture. MDK za Cd na pjeskovitim tlima iznosi od 0,0-0,5 mg/kg, za praškasto-ilovasta tla 0,5-1,0 mg/kg, a za glinovita tla 1,0-2,0 mg/kg. Pristupačnost Cd u tlu ovisi o svojstvima tla kao što su koncentracija Cd i oblik u kojem se nalazi u tlu, pH tla, sadržaj

organske tvari i gline, kationski izmjenjivački kapacitet tla te topivi Cl, S i Na (Wu i sur., 2002). Budući da usvajanje Cd ovisi o njegovoj koncentraciji u tlu, koncentracija Cd u zrnu pšenice može se predvidjeti na osnovu podataka o ukupnom Cd u tlu i pH tla (Adams i sur., 2004).

Prosječna koncentracija Cd u zrnu ispitivanih sorti iznosi 0,0255 mg/kg suh.tv. (raspon od 0,0070 do 0,0509 mg/kg suh.tv.). Najmanja koncentracija Cd u zrnu izmjerena je kod hrvatske sorte Osječka crvenka (0,0069 mg/kg suh.tv.), a najviša kod sorte Snaša (0,0509 mg/kg suh.tv.). Maksimalno dopuštena količina Cd u zrnu ozime pšenice iznosi 0,2 mg/kg (Commission regulation, 2001). Koncentracija Cd u zrnu svih ispitivanih sorti bila je ispod maksimalno dopuštene količine na nekontaminiranom tlu, čak je i sorta Snaša s najvećom izmjerrenom vrijednosti Cd u zrnu (0,05085 mg/kg suh.tv.) ispod granice. S obzirom na niske koncentracije Cd u zrnu, omjer PA/Cd je vrlo visok, što je u slučaju Cd i poželjno. Najveći omjer iznosio je 471 283 kod sorte Osječka crvenka jer ta sorta ima najmanju koncentraciju Cd u zrnu, ali također i veću koncentraciju PA od prosjeka (19,26 mg/kg suh.tv.). Prema podacima Statističkog ljetopisa Republike Hrvatske (2010) prosječna dnevna potrošnja kruha u Hrvatskoj iznosi 210 g po stanovniku, tako bi se potrošnjom kruha od ispitivanih sorti pšenice u organizam unesilo manje od dozvoljene dnevne količine Cd (0,057-0,071 mg (WHO, 1972)). No treba uzeti u obzir da bi se konzumacijom 210 g kruha od cijelog zrna sorti Katarina, Vulkan, Divana, Super Zlatna, MV 10, MV 12, Prima (OD), Glenlea, Ching-chang 6 te Chinese spring (koje imaju koncentraciju Cd u zrnu  $>0,04$  mg/kg) u organizam unesilo više od 10% maksimalno dozvoljene dnevne količine Cd, a sortom Snaša i 15%. Također je važno napomenuti da su 4 od 11 navedenih sorti iz Hrvatske (Katarina, Vulkan, Divana i Snaša). Konzumacijom kruha od sorte Osječka crvenka, koja ima najmanju koncentraciju Cd u zrnu (0,00696 mg/kg suh.tv.), unesilo bi se samo 2% od maksimalno dozvoljene dnevne količine.

Prijašnja istraživanja pokazala su da Cd negativno utječe na agronomска svojstva pšenice, kao što su masa zrna, masa biljke, količina zrna po klasu, ali da ne utječe na koncentraciju Zn u zrnu (Rebekić i Lončarić, 2016). Iako međuodnos između Zn i Cd još nije u potpunosti razjašnjen, postoje brojna istraživanja na tu temu. Smilde i sur. (1992) istraživali su utjecaj dodatka Zn i Cd u tlo na koncentracije Zn i Cd u pet različitih biljnih vrsta (salate, špinata, jare pšenice, kukuruza i endivije) na dva tipa tla (ilovasto i pjeskovito tlo). Na pjeskovitim tlima dodatak Cd imao je negativan učinak na koncentraciju Zn u biljkama, što je pokazatelj antagonizma Zn i Cd. Salata i endivija, na pjeskovitom tlu, reagiraju drugačije na

dodatak Zn, očekivalo se smanjenje koncentracije Cd, ali njegova koncentracija se povećala. Autori su to prozvali prividnim sinergizmom: zbog negativnog djelovanja Zn na rast biljke, povećava se koncentracija Cd u biljci, ali ne i njegov unos iz tla. Taj prividni sinergizam je zapravo antagonizam, ukupna koncentracija Cd u biljci prividno raste jer suvišak Zn smanjuje količinu suhe tvari u biljci. Na ilovastom tlu, dodatak Zn povećao je koncentraciju Zn u biljkama, a dodatak Cd uzrokovao je mali porast u koncentraciji Zn. Rezultati za sve ispitivane biljne vrste bili su slični i autori su zaključili da Zn i Cd na ilovastim tlima djeluju sinergistički. Da Zn i Cd djeluju sinergistički pokazali su još i rezultati koje su dobili Nan i sur. (2001). Rebekić i Lončarić (2014) su također istraživali međuodnos Zn i Cd kod pšenice, riže i ječma, i dobili rezultate koji pokazuju da njihov međuodnos može biti i sinergističan i antagonističan, pri čemu pravac međuodnosa vjerojatno određuje interakcija genotipa i koncentracije raspoloživih Zn i Cd. U okviru ovog istraživanja dobivena je značajna pozitivna korelacija ( $r=0,509$ ) između koncentracija Cd i Zn, što govori o sinergističkom odnosu Cd i Zn. Sorte Tom Thumb i Tena imaju najviše koncentracije Zn u zrnu (40,70 i 32,36 mg/kg suh.tv.) te također imaju i iznadprosječne koncentracije Cd (0,0276 i 0,0303 mg/kg suh.tv.), to potvrđuje njihovu sinergiju. Između vrijednosti koncentracija Fe i Cd ( $r=0,202$ ) nije utvrđena značajna korelacija, što se ne slaže s rezultatima istraživanja Rebekić i Lončarić (2016), koji su utvrdili da je povećana koncentracija Cd u tlu povećala koncentraciju Fe u zrnu pšenice za 18%. Kako bi se objasnila ova razlika u dobivenim rezultatima svakako treba uzeti u obzir da je njihovo istraživanje obuhvaćalo i koncentracije elemenata u tlu kontaminiranom Cd što uvelike može utjecati na dobivene rezultate.

## **5. Zaključak**

Na temelju istraživanja sortne specifičnosti ozime pšenice s obzirom na akumulaciju Zn, Fe i Cd u zrno te koncentraciju fitata, može se zaključiti sljedeće:

1. Postoji sortna specifičnost u akumulaciji Zn, Fe i Cd u zrno.
2. Hrvatske sorte pšenice Tena, Klara, Monika, Vulkan i Kruna su imale iznadprosječnu koncentraciju Zn i povoljan omjer PA/Zn.
3. S obzirom na najveću biorasploživost oba mikroelementa Zn i Fe mogu se izdvojiti hrvatska sorta Tena i japanska sorta Saitama 27.
4. Koncentracije Cd u svim istraživanim sortama su bile ispod maksimalno dopuštenih vrijednosti.
5. Većina istraživanih sorti imala je zadovoljavajuće koncentracije mikroelemenata Zn i Fe, ali i visoku koncentraciju PA zbog čega je raspoloživost navedenih mikroelemenata niska.
6. Stoga bi glavni cilj oplemenjivača, umjesto u smjeru biofortifikacije i povećanja koncentracije mikroelemenata, trebao ići smjeru smanjenja koncentracija PA u zrnu.

## 6. Literatura

- Adams ML, Zhao FJ, McGrath SP, Nicholson FA, Chambers BJ. 2004. Predicting cadmium concentrations in wheat and barley grain using soil properties. *J Environ Qual* 33:532-541.
- Alcantara E, Romera FJ, Canete M, Guardia MD. 2002. Effect of bicarbonate and iron supply on Fe (III) reducing capacity of roots and leaf chlorosis of the susceptible peach rootstock nema guard. *J Plant Nutr* 23:1607-1617.
- Barber SA. 1995. *Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach* (2nd ed.). John Wiley & Sons, New York, USA.
- Bhaskaram P. 2001. Immunobiology of mild micronutrient deficiencies. *Br J Nutr* 85:75–80.
- Bohn L, Meyer SA, Søren RK. 2008. Phytate: impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding – A review. *J Zhejiang Univ Sci* 9:165–191.
- Borrill P, Connerton JM, Balk J, Miller AJ, 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* 5:53.
- Bouis HE. 2003. Micronutrient fortification of plants through plant breeding: can it improve nutrition in man at low cost? *Proc Nutr Soc* 62:403-411.
- Cakmak I, Ozkan H, Braun HJ, Welch RM, Romheld V. 2000. Zinc and iron concentrations in seeds of wild, primitive, and modern wheats. *Food Nutr Bull* 21:401-403.
- Cakmak I, Pfeiffer WH, McClafferty B. 2010. Biofortification of durum wheat with zinc and iron. *Cereal Chem* 87:10-20.
- Cheryan M, Rackis JJ. 1980. Phytic acid interactions in food systems. *Crit Rev Food Sci Nutr* 13:297-335.
- Commission regulation (EC) No 466/2001, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuff. 2001. *Official Journal of the European Communities* L77/1.
- Dai F, Wang J, Zhang S, Xu Z, Zhang G. 2007. Genotypic and environmental variation in phytic acid content and its relation to protein content and malt quality in barley. *Food Chem* 105:606–611.

Drčić D. 2014. Ekotoksikologija kadmija. *Tedi: međunarodni interdisciplinarni časopis* 4:66-77.

Eagling T, Wawer AA, Shewry PR, Zhao F, Fairweather SJ. 2014. Iron bioavailability in two commercial cultivars of wheat: Comparison between wholegrain and white flour and the effects of nicotianamine and 2'-deoxymugineic acid on iron uptake into Caco – 2 cells. *J Agric Food Chem* 62:10320-10325.

Edžed A. 2012. Sortna specifičnost akumulacije kadmija, cinka i željeza u zrnu ozime pšenice (*Triticum aestivum L.*). *Poljoprivreda* 18:69-70.

Elkhalil EAI, El-Tinay AH, Mohamed BE, Elsheikh EAE. 2001. Effect of malt pretreatment on phytic acid and in vitro protein digestibility of sorghum flour. *Food Chem* 72:29–32.

Febles CI, Arias A, Hardisson A, Rodriguez-Alvarez C, Sierra A. 2002. Phytic acid level in wheat flours. *J Cereal Sci* 36:19-23.

Ficco DBM, Rieffolo C, Nicastro G, De Simone V, Di Gesu AM, Beleggia R, De Vita P. 2009. Phytate and mineral elements concentration in a collection of Italian durum wheat cultivars. *Field Crops Res* 111:235-242.

Gallego SM, Pena LB, Barcia RA, Azpilicueta CE, Iannone MF, Rosales EP, Zawoznik MS, Groppa MD, Benavides MP. 2012. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environ Exp Bot* 83:33-46.

Gao X, Mohr RM, McLaren DL, Grant CA. 2011. Grain cadmium and zinc concentrations in wheat as affected by genotypic variation and potassium chloride fertilization. *Field Crops Res* 122:95-103.

Gargari BP, Mahboob S, Razavieh SV. 2007. Content of phytic acid and its mole ratio to zinc in flour and breads consumed in Tabriz, Iran. *Food Chem* 100:1115-1119.

Gargari BP, Mahboob S, Razavieh SV. 2007. Content of phytic acid and its mole ratio to zinc in flour and breads consumed in Tabriz, Iran. *Food Chem* 100:1115–1119.

Gautam S, Patel K, Srinivasan K. 2010. Higher bioaccessibility of iron and zinc from food grains in the presence of garlic and onion. *J Agri Food Chem* 58:8426-8429.

Gibson RS. 2006. Zinc: the missing link in combating micronutrient malnutrition in developing countries. *Proc Nutr Soc* 65:51-60.

González- Esteban ÁL. 2017. Why wheat? International patterns of wheat demand, 1939-2010. *Economic History Research* 13: 135-150.

Graham RD, Senadhira D, Beebe S, Iglesias C, Monasterio I. 1999. Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: conventional approaches. *Field Crops Res* 60:57–58.

Hänsch R, Mendel RR. 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl) – A review. *Curr Opin Plant Biol* 12:259–266.

Haugh W, Lantzsch HJ. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J Sci Food Agric* 34:1423–1426.

Herbert V. 1987. Recommended dietary intakes (RDI) of iron in humans. *Am J Clin Nutr* 45:679-686.

Hidvegi M, Lasztity R. 2002. Phytic acid content of cereals and legumes and interaction with proteins. *Period Polytech-Chem* 46:59-64.

Jenab M, Thompson LU. 1998. The influence of phytic acid in wheat bran on early biomarkers of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 19:1087-1092.

Kaya M, Küçükyumuk Z, Erdal I. 2009. Phytase activity, phytic acid, zinc, phosphorus and protein contents in different chickpea genotypes in relation to nitrogen and zinc fertilization. *Afr J Biotechnol* 8:4508–4513.

Kesedžić M. 2015. Utjecaj razine poliploidije na akumulaciju cinka u zrno roda *Triticum*. Doktorski rad. Sveučilište Josipa Juraja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, Osijek.

Khan AJ, Ali A, Azam F, Zeb A. 2007. Identification and isolation of low phytic acid wheat (*Triticum aestivum* L.) inbred lines/mutants. *Pak J Bot* 39:2051–2058.

Kingston HM, Jassie LB. 1986. Microwave energy for acid decomposition at elevated temperatures and pressures using biological and botanical samples. *Anal Chem* 58:2534-2541.

Kramer U, Clemens S. 2005. Function and homeostasis of zinc, copper, and nickel in plants. *Topics Curr Genet* 14:215-271.

Larson SR, Young KA, Cook A, Blake TK, Raboy V. 1998. Linkage mapping of two mutations that reduce phytic acid content of barley grain. *Theor Appl Genet* 97:141-146.

Liu ZH, Wang HY, Wang XE, Zhang GP, Chen PD, Liu DJ. 2006. Genotypic and spike positional difference in grain phytase activity, phytate, inorganic phosphorus, iron, and zinc contents in wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Cereal Sci* 44:212–219.

Lolas GM, Markakis P. 1975. Phytic acid and other phosphorus compounds of beans. *J Agric Food Chem* 23:13-15.

Magallanes-López AM, Hernandez-Espinosa N, Velu G, Posadas-Romano G, Ordoñez-Villegas VM, Crossa J, Ammar K, Guzmán C. 2017. Variability in iron, zinc and phytic acid content in a worldwide collection of commercial durum wheat cultivars and the effect of reduced irrigation on these traits. *Food Chem* 237:499-505.

Martinčić J, Kozumplik V. 1996. *Oplemenjivanje bilja*. Poljoprivredni fakultet Osijek, Osijek.

Mengel K, Kirby EA. 2001. *Principles of plant nutrition*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 849 pp.

Mitchell DO, Mielke M. 2005. *Wheat: The global market, policies and priorities*. In A. M. A. & J. C. B. (Eds.), Global agricultural trade and developing countries 195–214 pp. Washington DC: World Bank.

Morris ER, Ellis R. 1989. Usefulness of the dietary phytic acid/zinc molar ratio as an index of zinc bioavailability to rats and humans. *Biol Trace Elem Res* 19:107–117.

Mortvedt JJ, Gilkes RJ. 1993. *Zinc in soils and plants*. Springer, Dordrecht 33-44 pp.

MPRRR. 2010. Pravilnik o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja. *Narodne novine* 32/2010.

Murphy KM, Reeves PG, Jones SS. 2008. Relationship between yield and mineral nutrient concentrations in historical and modern spring wheat cultivars. *Euphytica* 163:381-390.

Murtaza G, Javed W, Hussain A, Qadir M, Aslam M. 2017. Soil-applied zinc and copper suppress cadmium uptake and improve the performance of cereals and legumes. *Int J Phytorem* 19:199-206.

Nan Z, Li J, Zhang J, Cheng G. 2002. Cadmium and zinc interactions and their transfer in soil-crop system under actual field conditions. *Sci Total Environ* 285:187-195.

O'Dell BL, De Boland RA, Koirtyohann SR. 1972. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *J Agric Food Chem* 20:718-723.

Oliver DP, Gartrell JW, Tiller KG, Correl R, Cozens GD, Youngberg BL. 1995. Differential responses of Australian wheat cultivars to cadmium concentration in wheat grain. *Aust J Agr Res* 46:873-886.

Oury FX, Leenhard F, Remesy C, Chanliaud E, Duperrier B, Balfourier F, Charmet G. 2006. Genetic variability and stability of grain magnesium, zinc and iron concentrations in bread wheat. *Eur J Agron* 25:177-185.

Pomeranz Y. 1990. *Advances in Cereal Science and Technology*. Vol. X., American Association of Cereal Chem., st. Paul., M N.

Raboy V. 2001. Seeds for a better future: 'low phytate' grains help to overcome malnutrition and reduce pollution. *Trends Plant Sci* 6:458-462.

Rahimzadeh MR, Rahimzadeh MR, Kazemi S, Moghadamnia AA. 2017. Cadmium toxicity and treatment: An update. *Caspian J Intern Med* 8:135-145.

Ramzani PM, Khalid M, Naveed M, Ahmad R, Shahid M. 2016. Iron biofortification of wheat grains through integrated use of organic and chemical fertilizers in pH affected calcareous soil. *Plant Physiol Biochem* 104:284-293.

Rebekic A, Loncaric Z. 2016. Genotypic difference in cadmium effect on agronomic traits and grain zinc and iron concentration in winter wheat. *Emir J Food Agric* 28:772-778.

Rebekić A, Lončarić Z. 2014. Međuodnos cinka i kadmija–sinergija ili antagonizam. *Zbornik radova* 49:17-25.

Rehman MZ, Rizwan M, Ghafoor A, Naeem A, Ali S, Sabir M, Qayyum MF. 2015. Effect of inorganic amendments for in situ stabilization of cadmium in contaminated soils and its phyto-availability to wheat and rice under rotation. *Environ Sci Pollut* 440:16897-16906.

Risk reduction monograph no. 5: Cadmium. Background and national experience with reducing risk. Environment Directorate, Paris.

Rizwan M, Ali S, Adrees M, Rizvi H, Rehman MZ, Hannan F, Qayyum MF, Hafeez F, Ok YS. 2016. Cadmium stress in rice: toxic effects, tolerance mechanisms, and management: a critical review. *Environ Sci Pollut Res* 23:17859-17879.

Sadak MS, Abdelhamid MT. 2015. Influence of amino acids mixture application on some biochemical aspects, antioxidant enzymes and endogenous polyamines of *Vicia faba* plant grown under seawater salinity stress. *Gesunde Pflanz* 67:119-129.

Sadeghzadeh B. 2013. A review of zinc nutrition and plant breeding. *Soil Sci Plant Nutr* 13:905–927.

Schulte EE. 1992. *Soil and applied zinc*. Vol. 2528. University of Wisconsin -Extension.

Shewry PR. 2009. Wheat. *J Exp Bot* 60:1537–1553.

Smilde KW, Van Luit B, Van Driel W. 1992. The extraction by soil and absorption by plants of applied zinc and cadmium. *Plant Soil* 143:233-238.

Statistički ljetopis Republike Hrvatske 2010. 2010. Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske; ISSN 1333-3305.

Stoltzfus RJ. 2001. Defining iron-deficiency anemia in public health terms: reexamining the nature and magnitude of the public health problem. *J Nutr* 131:565–567.

Talamond P, Doullbeau S, Rochette I, Guyot JP, Treche S. 2000. Anion-exchange high-performance liquid chromatography with conductivity detection for the analysis of phytic acid in food. *J Chromatogr* 871:7-12.

Tosi P, Sanchis Gritsch C, He J, Shewry PR. 2011. Distribution of gluten proteins in bread wheat (*Triticum aestivum*) grain. *Ann Bot* 108:23–35.

Tyler G, Pahlsson AM, Bengtsson G, Baath E, Tranvik L. 1989. Heavy metal ecology and terrestrial plants, micro-organisms and invertebrates: a review. *Water Air Soil Pollut* 47:189-215.

Vukadinović V. 2007. *Ishrana bilja – Mikroelementi*. Poljoprivredni fakultet u Osijeku.

Welch RM, House WA, Ortiz-Monasterio I, Cheng Z. 2005. Potential for improving bioavailable zinc in wheat grain (*Triticum* species) through plant breeding. *J Agric Food Chem* 53:2176-2180.

WHO, 2011. Micronutrient Deficiencies, Iron Deficiency Anemia. Retrieved December 4.

Worland AJ, Petrovic S. 1988. The gibberellic acid insensitive dwarfing gene from the wheat variety Saitama 27. *Euphytica* 35:55-63.

World Health Organization. 1972. Long term programme in environmental pollution control in Europe. The hazards to health of persistent substances in water. Annexes to a report on a working group. Technical documents on arsenic, cadmium, lead, manganese and mercury. Copenhagen.

World Health Organization. 1996. *Trace elements in human nutrition and health*. World Health Organization.

World Health Organization. 2010. *World health statistics 2010*. World Health Organization.

Wu J, Norwell WA, Hopkins DG, Welch RM. 2002. Spatial variability of grain cadmium and soil characteristics in durum wheat field. *Soil Sci Soc Am J* 66:268-275.

#### Web izvori

1. web 1: [http://www.obz.hr/vanjski/CD\\_AGBASE2/HTM/psenica.htm](http://www.obz.hr/vanjski/CD_AGBASE2/HTM/psenica.htm)