

# Zaštitna uloga sumporovodika i selena kod pšenične trave u uvjetima temperaturnog stresa

---

**Stanković, Gabrijela Rebeka**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /  
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:274925>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-10**



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](#)



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK**

Gabrijela Rebeka Stanković

Diplomski sveučilišni studij Povrčarstvo i cvjećarstvo

**ZAŠTITNA ULOGA SUMPOROVODIKA I SELENA KOD PŠENIČNE  
TRAVE U UVJETIMA TEMPERATURNOG STRESA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2020.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK**

Gabrijela Rebeka Stanković

Diplomski sveučilišni studij Povrčarstvo i cvjećarstvo

**ZAŠTITNA ULOGA SUMPOROVODIKA I SELENA KOD PŠENIČNE  
TRAVE U UVJETIMA TEMPERATURNOG STRESA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2020.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK**

Gabrijela Rebeka Stanković

Diplomski sveučilišni studij Povrčarstvo i cvjećarstvo

**ZAŠTITNA ULOGA SUMPOROVODIKA I SELENA KOD PŠENIČNE  
TRAVE U UVJETIMA TEMPERATURNOG STRESA**

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. prof.dr.sc. Tihana Teklić, predsjednik
2. izv.prof.dr.sc. Miroslav Lisjak, mentor
3. izv.prof.dr.sc. Andrijana Rebekić, član

**Osijek, 2020.**

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1. Pšenična trava .....	1
1.2. Sumpor (S).....	1
1.3. Selen (Se).....	2
1.4. Temperaturni stres .....	3
1.5. Cilj istraživanja .....	4
2. PREGLED LITERATURE .....	5
2.1. Biofortifikacija pšenice.....	5
2.2. Specifičnosti i odnos sumpora i selena .....	8
2.3. Zaštitna uloga i toksičnost selena u biljkama .....	10
2.4. Zaštitna uloga sumpora u biljkama.....	13
2.5. Sumporovodik.....	14
3. MATERIJAL I METODE.....	16
3.1. Postavljanje pokusa - uzgoj pšenične trave .....	16
3.2. Određivanje vitamina C .....	17
3.3. Određivanje lipidne peroksidacije (TBARS).....	18
3.4. Određivanje prolina .....	18
3.5. Određivanje suhe tvari .....	19
3.6. Analiza i obrada podataka.....	19
4. REZULTATI.....	20
5. RASPRAVA .....	28
6. ZAKLJUČAK .....	37
7. POPIS LITERATURE .....	38
8. SAŽETAK.....	42
9. SUMMARY .....	43
10. POPIS TABLICA.....	44
11. POPIS SLIKA .....	45
12. POPIS GRAFIKONA.....	46
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA	
BASIC DOCUMENTATION CARD	

## 1. UVOD

### 1.1. Pšenična trava

Pšenica (*Triticum aestivum* Linn.) koja pripada porodici *Poaceae* (trave), u početnim stadijima razvoja stvara mlade izdanke, odnosno zeleno lišće nakon 10 dana klijanja koje nazivamo pšeničnom travom. U tom vegetativnom razdoblju, prije generativne faze, pšenična trava sadržava veliku količinu nutrijenata i potrebne energije za daljnje formiranje sjemena. Zato se pšenična trava žanje u vegetativnom stadiju kako bi se iskoristio njen najveći nutritivni potencijal. Kemijski sastav joj čine: vitamini (A, C, E i B kompleks), minerali (Ca, P, Mg, K, Zn, B, Mo i zemnoalkalijski metali), aminokiseline (asparaginska i glutaminska kiselina, arginin, alanin i serin) te enzimi (proteaza, amilaza, lipaza, citokrom oksidaza, transhidrogenaza i superoksid dismutaza). Najveći udio u biljci čini klorofil sa čak 70 % pa se stoga sok pšenične trave naziva i "zelenom krvi". Antioksidativna moć pšenične trave proizlazi najviše iz sadržaja bioflavonoida kao što su apigenin, kvercetin i luteolin (Padalia i sur., 2010.).

Zbog nutritivnog sastava i antioksidativnih svojstava, pšenična trava se koristi u ljudskoj prehrani u obliku svježe cijedenog soka ili praha. Sve se više koristi pri liječenju niza bolesti i ublažavanju različitih tegoba. Terapija sokom pšenične trave uspješno se primjenjuje na krvožilne i kožne bolesti, kronične bolesti poput astme, bronhitisa, dijabetesa, nesanicice i slično. Vrlo je učinkovita i kod ozbiljnih bolesti kao što su tumori. Naime, pšenična trava sadrži enzim superoksid dismutazu, selen i laetril (B17) koji ubijaju tumorske stanice, a klorofil pospješuje nastanak crvenih i bijelih krvnih stanica. Kemijska struktura pšenične trave i ljudske krvi je vrlo slična (pH vrijednost pšenične trave i krvi je 7,4) pa se stoga sok pšenične trave vrlo lako i brzo apsorbira u krvi (Mujoriya i Bodla, 2011.).

### 1.2. Sumpor (S)

Sumpor (S) je nemetal koji u periodnom sustavu elemenata ima redni broj 16 te atomsku masu 32,06. Pripada skupini halkogenih elemenata jer se nalazi u sastavu ruda. Na sobnoj je temperaturi u krutom stanju, u obliku praha svijetložute boje. Rasprostranjen je i sveprisutan na Zemlji, a u tlu se najčešće nalazi u obliku sulfida. Sulfidi raspadanjem lako oslobađaju sumpor koji brzo oksidira, a oksidaciju vrše sumporne bakterije od kojih je najznačajnija *Thiobacillus thiooxidans*. Sumpor se u tlu akumulira i taloženjem iz atmosfere, gdje se nalazi u obliku  $SO_2$  i  $H_2S$ . Ukupna količina sumpora u tlima umjerenog klimata je 0,05-0,4 %, a pojavljuje se u

organskom i anorganskom obliku. U laganim, ocjeditim tlima sumpor se većim dijelom nalazi u organskoj tvari (60-90 % ukupnog S iz tla), dok je anorganski sumpor većinskim dijelom u obliku topljivih i netopljivih soli.

Prema značaju za biljnu ishranu, sumpor pripada skupini esencijalnih, to jest neophodnih elemenata, a prema količini hraniva koje biljke zahtijevaju ubraja se u makroelemente. Biljke najčešće usvajaju sumpor u obliku aniona  $\text{SO}_4^{2-}$  te se u tom obliku nalazi u protoplazmi biljaka kao mineralna rezerva (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

Biljke sumpor najviše uzimaju korijenjem u obliku sulfata, koji se dalje reduciraju do sulfida, sulfita i sumpora koji je ugrađen u aminokiseline metionin i cistein. Tijekom tog procesa redukcije, oslobađa se i sumporovodik u atmosferu. Sumpor ima značajnu fiziološku ulogu jer je konstituent aminokiselina, enzima, glukozida, vitamina biotina i tiamina te drugih organskih molekula. Zbog toga je važan za stabilizaciju proteinskih struktura te je dijelom odgovoran za specifičnost glutena kod žitarica. Utječe na kvalitetan rast i razvoj biljaka te ima važnu zaštitnu ulogu kod biotskog i abiotskog stresa u biljaka (Abrol i Ahmad, 2003.).

### **1.3. Selen (Se)**

Selen (Se) je polumetal koji u periodnom sustavu elemenata ima redni broj 34 te atomsku masu 78,96. Nalazi se u šesnaestoj skupini halkogenih elemenata, isto kao i sumpor, kojemu je selen kemijski vrlo sličan. U tlu se javlja u različitim oksidacijskim stupnjevima, a biljke ga najčešće usvajaju u anorganskom obliku: selenata ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) ili selenita ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ). Kod visoke raspoloživosti selena u tlu smanjeno je usvajanje sulfata i tada selen zamjenjuje sumpor u cisteinu i metioninu te enzimima koji sadrže sumpor kao što je na primjer ATP sulfurilaza. U poljoprivrednim tlima se većinom očituje nedostatak selena, a uzrok toga je povezan sa smanjenom količinom ili pristupačnosti u tlu. Elementarni selen, selenidi i soli poput selenijevih sulfida, pojavljuju se samo u reducirajućim i kiselim uvjetima, na tlima s puno organske tvari. Mala topljivost i nizak oksidacijski potencijal te oblike selena čini slabo pristupačnim za biljke i životinje. Neka mineralna gnojiva, kao i teški metali, posebice olovo (Pb), kadmij (Cd) i živa (Hg), vežu selen u tlu i onemogućuju njegovo kruženje u prehrambenom lancu (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

Prema značaju za biljnu ishranu, selen pripada skupini benefcijalnih, odnosno korisnih elemenata. Za ljude i životinje selen je esencijalan, a u ljudskoj prehrani se dobiva isključivo iz

biljnih namirnica. Selen ima važnu fiziološku ulogu kod organizama jer je sastavnica selenoenzima koji imaju zaštitno djelovanje pri oksidativnom stresu. Selen neutralizira štetno djelovanje reaktivnih oblika kisika (ROS- eng. *Reactive Oxygen Species*) te nekih teških metala kao što su kadmij, arsen i olovo. Također, neki organski oblici selena, kao što je Selenometilselenocistein, inhibiraju nastanak tumorskih stanica i blokiraju stanice odgovorne za nastanak tumorskih lezija na dojtkama. Zbog toga je selen važno uvrstiti u ishranu, a preporučena dnevna doza za odraslog čovjeka je 250-300 µg. Ta doza je potrebna za potpunu učinkovitost djelovanja selenoproteina, ali većina ljudske populacije ne unosi tu dostatnu količinu selena. Posljedica deficita selena su: bolesti štitnjače, slab imunološki sustav, povišen krvni tlak, reuma, oštećenja jetre i rak. U količinama većim od dozvoljenih, selen može i toksično djelovati, ali to je rjeđa pojava (Pilon-Smits i sur., 2017.).

#### **1.4. Temperaturni stres**

Temperatura je uz svjetlost glavni čimbenik okoliša koji utječe na rast i razvoj biljaka. Osnovni fiziološki procesi, kao što su: upijanje vode, fotosinteza, disanje, transpiracija i nakupljanje stvorenih asimilata, su pod izravnim utjecajem temperature. Prema zahtjevima za temperaturom biljke se dijele na termofilne (kojima pogoduju više temperature), mezofilne te psihrofilne (zahtjevaju niže temperature).

Izlaganje previsokim temperaturama i nedostatak vode mogu dovesti do oštećenja stanica i uvenuća biljke. Zbog toga su razvile mehanizme otpornosti na toplotni stres u vidu anatomskih prilagodbi i fizioloških odgovora. Anatomske prilagodbe na toplotni stres temelje se na smanjenju insolacije listova (reflektirajuće tvari u sastavu kutikule, formiranje dlačica, uvijanje listova, promjena položaja lista) i poboljšanju usvajanja vode (dublji razvoj korijena). Kod aklimatiziranih biljaka, povećan je stupanj zasićenosti masnih kiselina u membranskim lipidima, što smanjuje fluidnost membrane, a inicira se i sinteza zaštitnih tvari u stanicama, poput proteina toplinskog šoka i osmoprotektanata poput prolina. Te tvari čuvaju hidrataciju protoplazme i neutraliziraju slobodne radikale te stabiliziraju strukturu proteina i nukleinskih kiselina. U osnovi otpornosti biljaka na visoke temperature je i sposobnost vezanja amonijaka oslobođenog dezaminacijom oštećenih proteina, tako da ne dođe do njegovog nakupljanja i toksičnog djelovanja.



Kod izloženosti biljaka preniskim temperaturama, aktiviraju se procesi oksidacije, hidrolize, nakupljanja organskih kiselina, aminokiselina, amida i štetnih tvari. Otporne biljke imaju veću sintezu ATP-a (adenozin-trifosfat), sporiju hidrolizu proteina i veći sadržaj šećera. Pri temperaturama ispod 0 °C, u metabolizmu otpornih biljaka, led se stvara u intercelularima, a ne u unutrašnjosti stanice te se tako čuvaju funkcije biomembrana. Šećeri su također zaštitne tvari koje povećavaju udio vezane vode te imaju specifično djelovanje na osjetljive membrane. Otkrivanje otpornih genotipova biljaka je od iznimne važnosti za uspješnu poljoprivrednu proizvodnju jer su ekstremne temperature glavni činitelj ograničenja produktivnosti biljaka (Teklić, 2012.).

### **1.5. Cilj istraživanja**

1. Utvrditi utjecaj sumpora i selena na rast i razvoj pšenične trave pri izlaganju biljke nižoj, optimalnoj i višoj temperaturi.
2. Laboratorijskim analizama ispitati lipidnu peroksidaciju, količinu vitamina C i prolina u biljnom tkivu pri različitim temperaturama.
3. Utvrditi ima li razlike u rastu i razvoju pšenične trave, uzimajući u obzir sve parametre: različite sorte pšenice, tretmane različitim otopinama te promjene temperaturnih uvjeta.

Osnovna hipoteza istraživanja je da tretiranje pšenične trave otopinama sa sumporom i selenom može rezultirati pokazivanjem zaštitne uloge tih tvari kod izlaganja biljke nepovoljnim temperaturama. Očekuju se različite vrijednosti u kemijskim analizama ispitivanja lipidne peroksidacije, vitamina C i prolina, ovisno o primijenjenim tretmanima sumporom i selenom te o temperaturama kojima su biljke bile izložene. Glavni cilj istraživanja je utvrditi da li biofortifikacija pšenične trave sumporom i selenom povećava kvalitetu pšenične trave i mehanizam otpornosti biljaka na temperaturni stres.

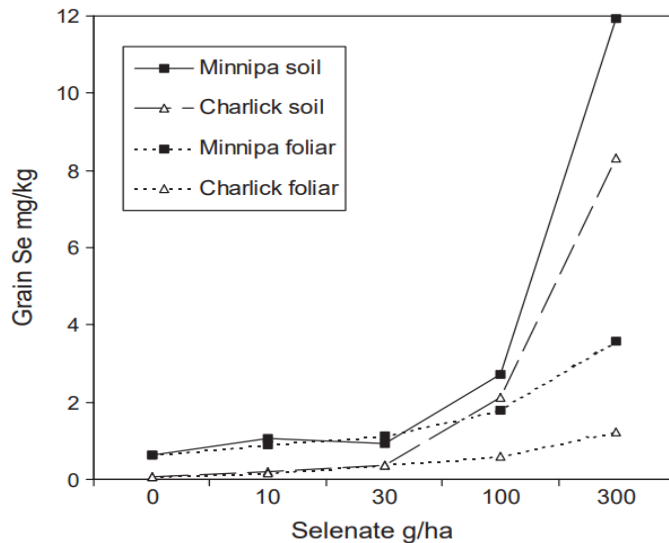
## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Biofortifikacija pšenice

Nakon kukuruza, pšenica je druga po redu žitarica po veličini svjetske proizvodnje. Zbog gladi u nerazvijenim zemljama te nedostatka nutrijenata u ljudskoj ishrani, razvijaju se produktivniji načini uzgoja usjeva. Jedan od njih je biofortifikacija - način uzgoja usjeva pri kojemu se, uz uporabu biotehnologije, proizvodi hrana povećane nutritivne vrijednosti. Cilj je da merkantilni dio biljke bude obogaćen mikronutrijentima i vitaminima koji su neophodni, a sve više deficitni u ljudskoj ishrani. Jedan od tih esencijalnih mikronutrijenata za ljude je selen, a istraživanje u Australiji je pokazalo kako njihovo stanovništvo konzumacijom pšenice zadovoljava polovicu preporučenog dnevnog unosa selena (Lyons i sur., 2005.).

Lyons i sur. (2005.) su ispitivali učinkovitost biofortifikacije pšenice selenom na dvije lokacije u Australiji. Dvjestu skupinama su dodavali selen izravno u tlo, a ostalima su selen aplicirali folijarno (izravno na biljku). Primjenjivali su ga u obliku natrijevog selenata ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ), koji je biljkama lako dostupan jer je vodotopljiv i mobilan u tlu. Utvrdili su kako je aplikacija selena u tlo pri sjetvi pšenice bila učinkovitija od folijarne primjene na biljke. Naime, kultivari koji su posijani u tlo tretirano selenatom, su nakon ispitivanja pokazali veće koncentracije selena u biljci pšenice, od onih koje su folijarno tretirane selenom (Slika 1.).

U literaturi se navodi kako su koncentracije do 0,6 mg/kg selena u tlu deficitne vrijednosti. Lyons i sur. (2005.) su u istom istraživanju ispitivali početne koncentracije selena u različitim tipovima tala. Otkrili su kako više od 100 uzoraka pokazuje količinu selena manju od 0,2 mg/kg, a na istim su tlima kasnije proizveli pšenicu koja pokazuje dostatne količine selena u biljci. Na primjer, koncentracija selena u pšenici na Kangaroo Island-u je bila 5 µg/kg, a na Mannipi čak 720 µg/kg. Dakle, tlo u Mannipi je pokazalo najveće vrijednosti, tako da ne može biti svrstano u kategoriju tala s deficitom selena. U ovom pokusu, znanstvenici su posijali sljedeće genotipove pšenice: durum pšenicu (*T. turgidum* L. var. durum), triticales (*X. triticosecale* Wittmack) i diploidnu pšenicu (*Aegilops tauschii* L.). Među genotipovima nije bilo značajnih razlika u uzgoju i kasnijim analizama, a najveću koncentraciju selena pokazala je diploidna pšenica.

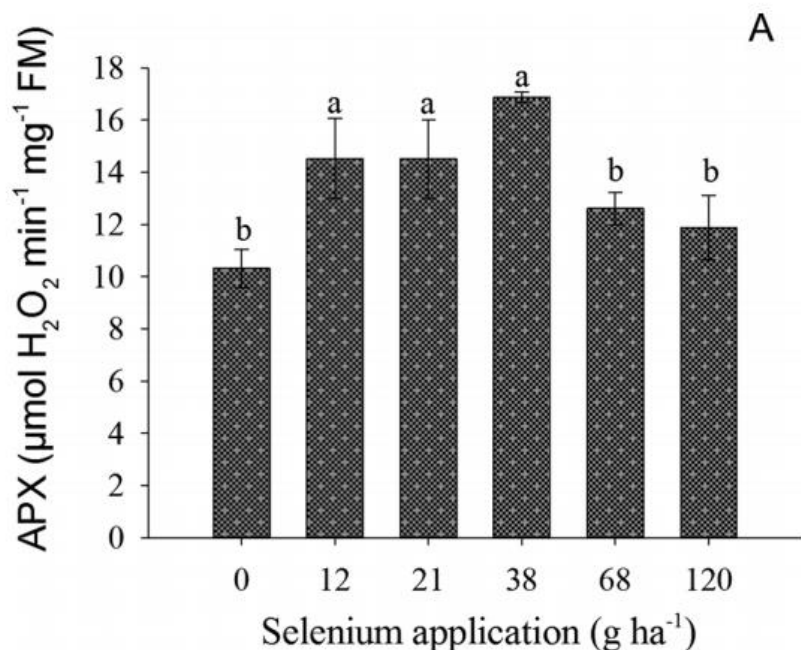


**Fig. 2.** Grain selenium concentration of wheat grown at two sites in South Australia in 2002. Selenium was applied as sodium selenate either to the soil at seeding or as a foliar spray after flowering. Means of four replications (from [32]).

**Slika 1.** Koncentracija selenata u pšenici koja je uzgajana na dvije lokacije u Južnoj Australiji, 2002. Selen je dodan kao natrijev selenat u tlo ili folijarno nakon cvatnje. Pokus je izveden u 4 ponavljanja. (Izvor: Lyons i sur., 2005.)

Lara i sur. (2019.) su također proveli biortifikaciju pšenice selenom. Istraživanje je provedeno u Brazilu na kultivaru pšenice *Triticum aestivum* L. var. BRS 264. Sjetva je izvršena u svibnju, a u tlo je aplicirano komercijalno NPK gnojivo 8-28-16 (N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O). Selen su dodavali folijarno u obliku natrijevog selenata u sljedećim koncentracijama: 0, 12, 21, 38, 68 i 120 g/ha, a kontrolnu skupinu su tretirali deioniziranom vodom. Prva folijarna aplikacija izvršena je u lipnju, tijekom vegetativne faze, a druga u kolovozu, nakon formiranja zrna. Vrijeme apliciranja su bili večernji sati, kako bi površina lista bolje apsorbirala selen. Tretman su ponovili četiri puta. Nakon žetve pšenice, provedene su analize biljne tvari koje su obuhvaćale ispitivanje ukupne količine dušika, sumpora, selenata, ugljikohidrata, proteina i aminokiselina te antioksidativnu aktivnost. Uslijed većeg sadržaja selenata, analize su pokazale veću aktivnost enzima askorbat peroksidaze (APX) u svakom tretmanu (Slika 2.). APX smanjuje štete izazvane

oksidativnim stresom i održava metaboličku homeostazu, što je od iznimne važnosti za održavanje permeabilnosti stanične membrane (Ahmad i sur., 2016.).



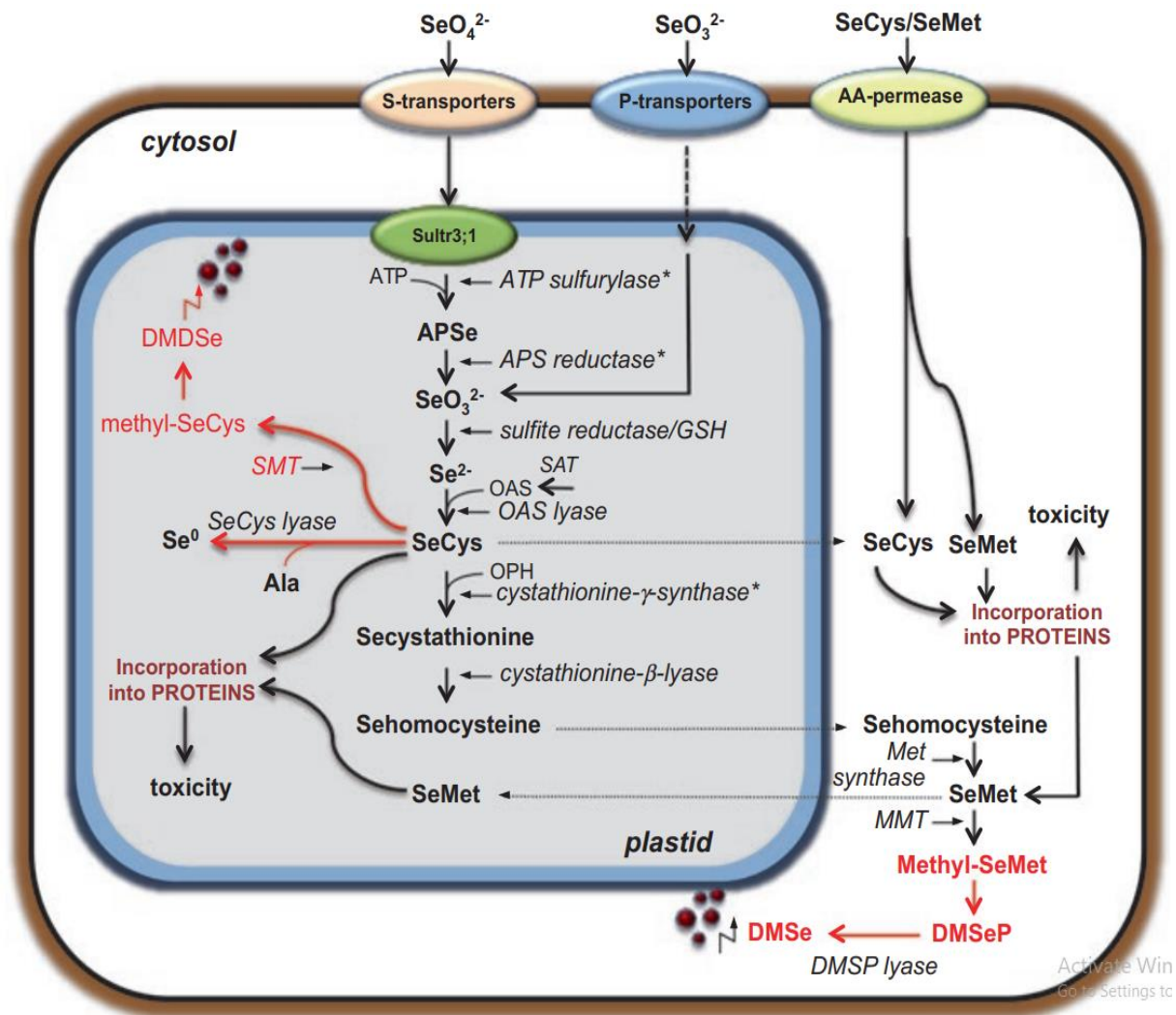
**Slika 2.** Povećana aktivnost enzima askorbat peroksidaze (APX) ovisne o količini apliciranog selena. (Izvor: Lara i sur., 2019.)

Utvrđeno je da su listovi tretirani selenom u vegetativnoj fazi imali veću koncentraciju selena od listova nakon generativne faze. Količina selena se proporcionalno povećavala s dodanim dozama u folijarnoj aplikaciji. Utvrdili su da selen ima pozitivan utjecaj na metabolizam dušika jer je ukupna količina dušika bila veća u ispitanoj biljnoj tvari s apliciranim selenom, za razliku od kontrolne skupine. Veća pristupačnost dušika u metaboličkim reakcijama, može rezultirati većim sadržajem proteina i aminokiselina u biljci pšenice (Yuan i sur., 2018.). U istraživanju iz Brazila nije dokazan veći sadržaj proteina i aminokiselina, ali su utvrdili povećanje količine ugljikohidrata u svakom tretmanu selenom. Tretman s koncentracijom selena od 21 g/ha, pokazao je najveću izmjerenu količinu ukupnih šećera, koja se povećala za 118 %. Veći sadržaj šećera bio je posljedica zabilježene veće stope procesa fotosinteze. S obzirom na to, i ukupan prinos nakon žetve je bio veći od prinosa kontrolne skupine. Povećane koncentracije selena nisu utjecale na promjenu sadržaja sumpora u biljnim izdancima i zrnu, koji je ostao između 1,03 i 1,90 mg/kg sumpora. Međutim, Boldrin i sur. (2016.) uočili su povećanje količine sumpora u

listovima riže i salate. Isti autori su proveli i istraživanja na pšenici, na kojoj su primijetili smanjenje ukupne količine sumpora pri tretmanima sa selenom. Zaključili su da promjena sadržaja sumpora u listovima može biti povezana s većom ekspresijom gena za transport proteina koji se nalaze u biljnom korijenu.

## **2.2. Specifičnosti i odnos sumpora i selena**

Sumpor i selen svrstani su u istu skupinu periodnog sustava zbog svojih kemijskih sličnosti, kao što je npr. veličina radijusa ( $S^{2-}=0,174$  i  $Se^{2-}=0,191$  nm). Zbog toga selen može zamijeniti sumpor u metalnim sulfidima. S obzirom da su kemijski slični, slično se ponašaju i u biljnom metabolizmu te su međusobno zamjenjivi. Oba elementa su važni osmoliti, što znači da održavaju osmotski potencijal i fiziološku aktivnost stanice. Biljke usvajaju selen iz tla ovisno o kemijskim svojstvima tla te o prisutnosti aniona kao što su sulfati i fosfati. Prisutnost sulfata u rizosferi inhibira usvajanje selena biljnim korijenjem. Biljke selen općenito mogu usvojiti u obliku anorganskih formi selenata i selenita te kao organske molekule u obliku aminokiselina selenocisteina i selenometionina (White i sur., 2004.). Najčešći oblik u kojem ga usvajaju je selenat, a nakon što ga usvoje korijenom, moraju ga prevesti u poseban biološki oblik kako bi moglo doći do asimilacije selena u biljnom metabolizmu (Slika 3.). Taj proces transformacije se odvija putem enzima ATP sulfurilaze koji veže selenat u ATP, tvoreći adenzin 5-fosfoselenat (APSe) ili adenzin 5-fosfosulfat. Faza se odvija i u citosolu i u plastidima. ATP sulfurilaza bila je predmet istraživanja genetskog inženjeringa biljaka s većom mogućnošću akumulacije selena, s ciljem upotrebe biljaka u fitoremedijaciji (Pilon-Smits i sur., 1999.). Aktivacijom APS reduktaze, APSe prelazi u selenit, a ta reakcija odvija se isključivo u plastidima. Kako bi se asimilacija selena nastavila, produkti reakcije moraju se brzo pretvoriti u drugi oblik, kako se ne bi aktivirala ATP sulfurilaza, koja reakciju vrši u obrnutom smjeru (Sors i sur., 2005.). APS reduktaza prevodi APSe u selenit, koji se dalje reducira do selenida. Proces transformacije selenita u selenid odvija se pomoću enzima sulfit reduktaze (SiR). Selenid je neophodan kemijski oblik jer se u toj formi selen inkorporira u organske molekule kao što su aminokiseline (Yarmolinski i sur., 2012.)



**Slika 3.** Shematski prikaz asimilacije selena u mezofilnim biljnim stanicama. Crveni tekst i strelice ukazuju na procese hiperakumulacije Se. Sultr - sulfat/selenat transporteri, adenzin fosfoselenat (APSe), GSH glutation, serin acetiltransferaza(SAT), O-acetilserin (OAS), selenocistein (SeCys), O-fosfohomoserin (OPH), selenometionin (SeMet), metilmetionin metiltransferaza(MMT), dimetilselenopropionat (DMSeP), dimetildiselenid (DMDSe), selenocistein metiltransferaza (SMT). (Izvor: Pilon-Smits i sur.,2017.)

Prijenos selenata u biljnom metabolizmu pod izravnim je utjecajem transportnog sustava sulfata (White i sur., 2004.). Transporteri sulfata prvi puta su okarakterizirani u biljci *Arabidopsis thaliana*, u tonoplastu biljne stanice. Barberon i sur. (2008.) su utvrdili da transporteri sulfata SULTR1;1 i SULTR1;2 posreduju u usvajanju selenata iz tla u biljno korijenje, ali postoje nejednaka funkcionalna ispuštanja između ta dva transportera. White i sur. (2004.) proveli su istraživanje na *Arabidopsis thaliana*, u kojemu su rezultati pokazali povećano usvajanje selenata u otopini tla s većom količinom sulfata.

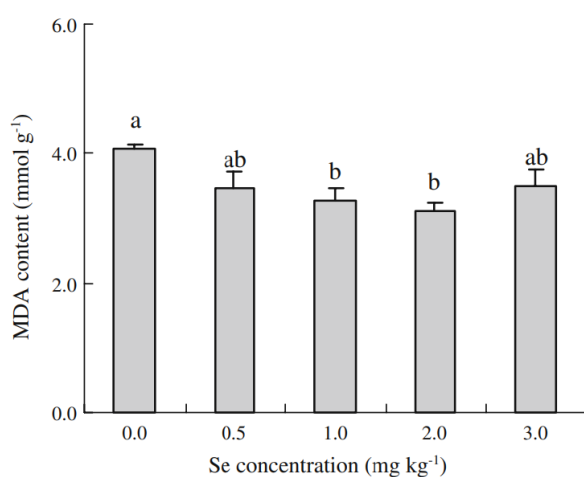
Pezzarossa i sur. (1999.) su dokazali antagonističko djelovanje sumpora i selenata u biljnoj fiziologiji. S povećanjem koncentracije selenata u gnojivu smanjuje se koncentracija i usvajanje sumpora u biljci. Proveli su pokus u stakleničkim uvjetima, na više različitih genotipova rajčice: *Lycopersicon lycopersicum*, *Lycopersicon pennellii* i *Lycopersicon peruvianum*. Rezultati su potvrdili da su sulfati u supstratu smanjili usvajanje selenata i povećali ukupnu količinu sumpora u listovima rajčice. U tretmanima s manjom količinom dodanih sulfata, selen se premjestio u plod, ali je koncentracija selenata bila puno veća u listovima, nego u jestivom dijelu rajčice. Također, postojala je i velika razlika između sadržaja selenata u listovima i korijenju, ovisno o većim ili manjim dozama dodanih sulfata. To ukazuje na to da je premještanje selenata iz korijena do biljnih izdanaka više uvjetovano visokom količinom sulfata, nego količine selenata koje je biljno korijenje usvojilo.

### **2.3. Zaštitna uloga i toksičnost selenata u biljkama**

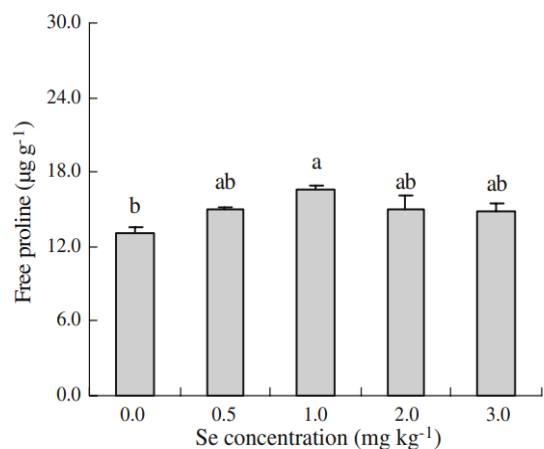
Iako nije esencijalan element za biljke, selen ima niz važnih fizioloških uloga u biljnom metabolizmu koje utječu na cjelokupan rast i razvoj biljke. Selen u manjim dozama štiti biljke od stresnih uvjeta kao što su hladnoća, suša i toksičnost uzrokovana teškim metalima (Gupta i Gupta, 2017.).

Chu i sur. (2009.) su izveli pokus na pšenici koju su posijali u sterilizirani supstrat te u njega dodali natrijev selenit ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) u koncentracijama od 0,5 do 3 mg Se/kg tla. Posijanu pšenicu su uzgajali u klima komori pri sljedećim uvjetima: fotoperiod od 12/12 h, temperatura 25 °C/18 °C (dan/noć) te 300  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  intenzitet svjetlosti. Hladni tretman je izveden kada su biljke razvile 3 prava lista. Tada su temperaturu u klima komori smanjili na 4 °C te intenzitet svjetlosti

na  $250 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Rezultati laboratorijskih analiza pokazali su da su svi tretmani sa selenom imali veću proizvodnju biomase te povećan sadržaj klorofila, u odnosu na kontrolnu skupinu. Nadalje, koncentracija malondialdehida (MDA), koji nastaje tijekom lipidne peroksidacije, bila je najveća u kontrolnoj skupini, a dodavanjem selena se smanjivala (Slika 4.). Također, prisutnost selena pokazala je pozitivne učinke na ukupnu antioksidativnu aktivnost enzima. Biljke tretirane selenom imale su veći sadržaj važnih antioksidativnih komponenti biljnog metabolizma: antocijanina, flavonoida i fenolnih komponenti. Jedino je sadržaj karotenoida bio nešto manji od kontrolne skupine. Prolin, koji ima tipičan mehanizam biokemijskih prilagodbi živih bića na različite stresne uvjete, u ovom je istraživanju također pokazao povećan sadržaj uslijed prisutnosti selena (Slika 5.). Ova studija je dokazala kako dostatna količina selena u biljnoj proizvodnji može smanjiti negativne učinke temperaturnog stresa uzrokovanog nižom temperaturom. To je rezultat veće akumulacije klorofila, antioksidativnog kapaciteta biljnih stanica, smanjene proizvodnje slobodnih radikala te manje lipidne peroksidacije membrana.



**Slika 4.** Sadržaj MDA u svježoj tvari pšenice pri različitim Se tretmanima. (Izvor: Chu i sur., 2009.)



**Slika 5.** Sadržaj prolina u svježoj tvari pšenice pri različitim Se tretmanima.

(Izvor: Chu i sur., 2009.)



S obzirom na mogućnost akumulacije selena biljke dijelimo na: hiperakumulatore, sekundarne akumulatore i ne-akumulatore. Biljke hiperakumulatori mogu akumulirati selen u koncentracijama većim od 1000 mg Se/kg DW (eng. *dry weight*-suha tvar), a sekundarni akumulatori mogu od 100 do 1000 mg Se/kg DW bez pokazivanja toksičnosti. Za razliku od njih, biljke ne-akumulatori mogu usvojiti manje od 100 mg Se/kg DW, a ukoliko rastu u tlima bogatim selenom, pokazuju slab rast i razvoj te dolazi do uvenuća. Selenoza ili toksičnost uzrokovana viškom selena, javlja se kod biljaka koje rastu u uvjetima gdje koncentracija selena premašuje optimalne količine. Selen uzrokuje toksičnost putem dva mehanizma: deformirani selenoproteini i induciranje oksidativnog stresa (Gupta, M. i S., 2017.).

Deformirani selenoproteini nastaju krivom inkorporacijom aminokiselina selenocisteina (SeCys) i selenometionina (SeMet) na mjesto cisteinmetionina (Cys/Met) u proteinskom lancu. U usporedbi sa SeMet, supstitucija SeCys je više reaktivna i štetna za funkcioniranje proteina. Cistein ima važnu ulogu za strukturu i funkciju proteina i pomaže formiranju disulfidnih mostova, katalizi enzima i vezanju metala. Zamjena cisteina sa selenocisteinom je štetna za strukturu i funkciju proteina jer je molekula SeCys veća, reaktivnija te se lakše deprotonira od cisteina (Hondal i sur., 2012.).

U visokim dozama, selen potiče nastanak reaktivnih oblika kisika koji uzrokuju oksidativni stres u biljkama. Osim kod biljaka hiperakumulatora i onih koje su tolerantne na veće količine selena, u tim se stresnim uvjetima smanjuje razina glutaciona (Hugouvieux i sur., 2009.). U istraživanju Granta i sur. (2011.) pokazalo se da mutirani oblici biljke *Arabidopsis* (*cad2-1*) imaju nepravilan put sinteze glutaciona koji je rezultirao smanjenim rastom korijenja, u usporedbi s biljkama divljih tipova koje su rasle u supstratu s nižom koncentracijom selena. Zaključili su da je trošenje glutaciona i akumulacija ROS-a povezana sa stresom izazvanim većim dozama selena. U drugom istraživanju, uočena je povećana stopa lipidne peroksidacije u sjemenu pšenice uslijed stresa uzrokovanog selenom (Labanowska i sur., 2012.). Tamaoki i sur. (2008.) utvrdili su veću akumulaciju ROS-a u *vtc1* mutantima pri uvjetima selenoze, koji su imali poremećenu sintezu askorbinske kiseline, za razliku od divljih tipova biljaka koje nisu bile izložene suficitnim dozama selena.

Biljke hiperakumulatori selena imaju drugačije interakcije selena i sumpora od drugih biljaka koje su manji akumulatori selena. U njihovom metabolizmu apsorbirani selenat inhibira

usvajanje sulfata, dok je sulfatima smanjena sposobnost inhibiranja usvajanja selenata te opskrba selenom u njima ne povećava koncentracije sumpora. Zbog toga su biljke s velikom sposobnošću akumulacije selenata, većinom u nedostatnoj opskrbljenosti sumporom (Harris i sur., 2014.).

#### **2.4. Zaštitna uloga sumpora u biljkama**

Tioli su glavni oblici reduciranog sumpora u biljkama, a jedan od najvažnijih je tripeptid glutation (GSH). Velik dio inkorporiranog sumpora u biljnom tkivu se nalazi u tiolnim grupama (-SH) u proteinima ili neproteinskim tiolima. GSH je glavna sastavnica u metabolizmu sumpora i važan je stanični redoks-pufer. Redoks reakcije imaju važnu ulogu za metaboličke odgovore biljne stanice na abiotski i biotski stres. Metabolizam pod stresom je općenito karakteriziran povećanom sintezom ROS-a. Oni sadrže toksične komponente (npr. vodikov peroksid) koje oštećuju proteine, lipide, nukleinske kiseline i pigmente, a posljedica je oksidativni stres (Packer, 1995.). Jedna od uloga GSH-a je regeneracija askorbata – glavne vodotopljive antioksidativne molekule u biljnim stanicama. U toj reakciji GSH oksidira do GSSG-a (oksidirani oblik glutationa) i regenerira se pomoću enzima glutation reduktaze. Taj enzimatski put (ciklus askorbata i glutationa) smatra se glavnim načinom uklanjanja štetnog vodikovog peroksida iz biljnih stanica (Noctor i Foyer, 1998.). Drugo važno antioksidativno svojstvo GSH-a je stabilizacija biomebrana. Lipidne membrane su najviše zahvaćene reakcijama ROS-a jer lipidnom peroksidacijom nastaju acil peroksidi, a GSH ih uklanja iz biljne stanice (McKersie i Leshem, 1994.)

Mehanizam otpornosti na niske temperature kod kukuruza (*Zea mays* L.) su istraživali Hodges i sur. (1996.). Različite sorte kukuruza su izložili temperaturama od 11 °C i nižima. Pri tim uvjetima niskih temperatura, uočili su povećanu sintezu GSH-a i drugih antioksidansa te se odnos GSH i GSSG smanjio. Neotporne sorte su nastavljale povećavati koncentracije GSH-a te je njihov omjer GSH i GSSG bio puno manji od tolerantih sorti, koje su bile izložene jednakim uvjetima.

U drugom istraživanju, biljke kukuruza su podvrgnuli temperaturnom šoku pri 40 °C. Uočili su da biljno korijenje i pri tom temperaturnom stresu znatno pojačava sintezu GSH-a. Bez obzira na taj zaključak, potrebno je provesti dodatna istraživanja o učincima visokih temperatura na

sustav glutationa jer nema dovoljno studija koje dokazuju utjecaj tog sustava na cjelokupan rast i razvoj biljaka (Nieto-Sotelo i Tuan-Hua, 1986.).

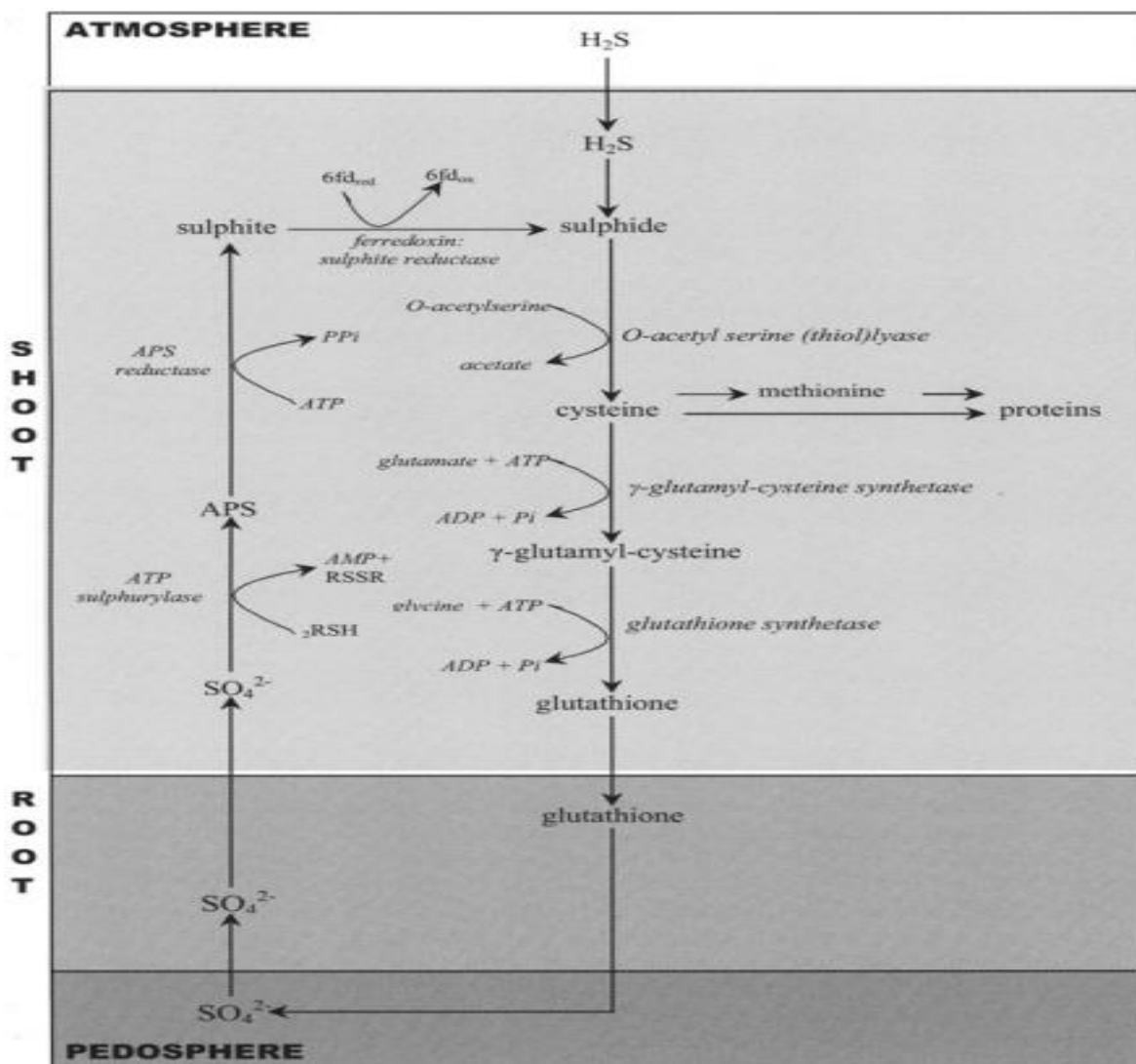
Biotski stres kod biljaka je uzrokovan patogenima poput bakterija, gljiva i virusa. Zato su biljke stvorile obrambene mehanizme kojima mogu smanjiti štetu i razvoj bolesti uzrokovanih napadima patogena. Mehanizmi otpornosti biljaka uključuju jačanje stanične stijenke depozicijom lignina i glikoproteina, induciranje aktivnosti hidrolitičkih enzima i biosintezu antimikrobnih fitoaleksina. Otkriveno je kako važnu regulacijsku ulogu u tim obrambenim mehanizmima ima GSH (Foyer i Rennenberg, 2000.). Fodor i sur. (1997.) utvrdili su znatno veće razine GSH-a kod biljke duhana (*Nicotiana tabacum* L.) koja je bila napadnuta virusom mozaika duhana. Koncentracija GSH-a bila je veća u biljkama zaraženim lokalno (u listovima), ali i sistemski. Dodavanje salicilne kiseline tim biljkama, također je rezultiralo povećanim sadržajem GSH-a. Znanstvenici su tako pretpostavili da induciranje tih antioksidativnih sustava dovodi do razvoja otpornosti zaraženih biljaka i na potencijalne buduće napade patogena.

## **2.5. Sumporovodik**

U većini poljoprivrednih svjetskih tala, sumpor se nalazi u nedostatnim količinama. U takvim deficitnim uvjetima, biljke mogu upotrijebiti sumpor iz atmosfere koji dolazi u obliku sumporovodika (hidrogen sulfid- $H_2S$ ). Sumporovodik može, u određenom obujmu, zamijeniti sulfate iz tla, kao izvor sumpora za biljke. Sumporovodik je ujedno i glavna volatilna sumporna molekula koju biljne stanice mogu i same sintetizirati. Na staništima gdje je sumpor u suvišku, više biljke su razvile prilagodbe u vidu volatizacije, to jest izbacivanja viška nakupljenog sumpora isparavanjem u atmosferu. Zbog toga je podrijetlo većinskog dijela atmosferskog sumpora upravo iz biljaka (Abrol i Ahmad, 2003.).

$H_2S$  se iz atmosfere u biljkama izravno metabolizira u cistein, a nakon toga i u druge organske oblike sumpora (Slika 6.). Dakle, sinteza cisteina je direktno povezana s fiksacijom atmosferskog  $H_2S$  u biljkama. Taj proces regulira enzim O-acetil serin (tiol)liaza. Izloženost biljaka atmosferskom sumporovodiku rezultira povećanim sadržajem tiolnih molekula, prvenstveno u biljnim izdancima, a zatim i u korijenju. Povećanje tog takozvanog tiolnog „bazena” ovisi o koncentraciji sumporovodika, biljnoj vrsti, starosti biljke, temperaturi i razini ishrane sumporom. Tioli, osim ukupne količine, mijenjaju i samu kompoziciju. Naime, ukoliko je unos sulfata biljnim korijenjem smanjen pa biljke većinski dobivaju sumpor iz atmosfere, uz

glutation nastaju velike količine cisteina i drugih tiola. Također, izloženost biljaka sumporovodiku rezultiralo je i manjim usvajanjem sulfata putem korijena te slabijim transportom sulfata do listova (De Kok i sur., 1997.).

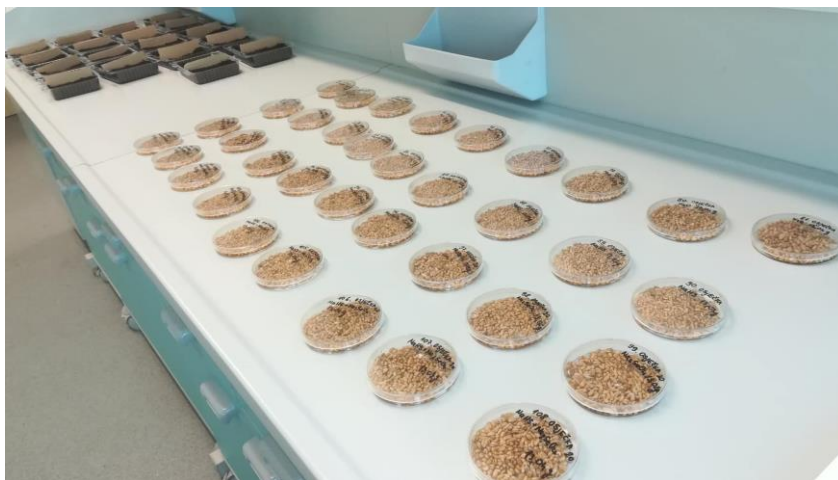


Slika 6. Metabolizam sumporovodika u biljkama. (Izvor: Abrol i Ahmad, 2003.)

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1. Postavljanje pokusa - uzgoj pšenične trave

Za pokus su posijane 3 sorte pšenice: Super Žitarka, Katarina i Osječka 20. Prije sjetve, sjeme svake sorte je izvagano 12 puta po 13 g te preliveno različitim otopinama u volumenu od 10 mL. U 3 ponavljanja je dodana destilirana voda ( $\text{dH}_2\text{O}$ ), u 3 ponavljanja natrijev selenat ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ), zatim natrijev hidrogensulfid ( $\text{NaHS}$ ) te je u zadnje 3 petrijeve zdjelice sjeme preliveno kombinacijom otopina natrijevog selenata i natrijevog hidrogensulfida ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4 + \text{NaHS}$ ). Sjeme je ostavljeno da imbibira (nabubri) 24 sata te je nakon toga posijano u treset koji je zaliven s 50 mL destilirane vode (Slika 7.).



**Slika 7.** Imbibicija sjemena pšenice s  $\text{dH}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ,  $\text{NaHS}$  i  $\text{Na}_2\text{SeO}_4 + \text{NaHS}$ .

Posudice su postavljene u klima komoru pri sljedećim uvjetima: trajanje dana i noći (14/10 h), temperatura  $20\text{ }^\circ\text{C}$  te relativna vlažnost zraka (Rh) 75 %. Pokus je izveden u 3 seta, a svaki set je trajao 10 dana. Svaki dan je u isto vrijeme pšenica zalijevana s 30-60 mL  $\text{H}_2\text{O}$ ; ovisno o vlažnosti supstrata. U prvom setu, svih 10 dana razvoja pšenične trave u klima komori, temperatura je iznosila  $20\text{ }^\circ\text{C}$  (kontrolna skupina). Osmi dan drugog seta, temperatura je podešena na  $10\text{ }^\circ\text{C}$  te tako ostavljena do žetve, odnosno još 48 sati. U trećem setu, temperatura je osmog dana povišena na  $30\text{ }^\circ\text{C}$  (Slika 8.). Nakon svakog seta, provedena je žetva pšenice na način da se škarama odreže mlado lišće pšenične trave, koje je nakon toga, u aluminijskoj foliji, spremljeno u hladnjak na  $-70\text{ }^\circ\text{C}$ . Pri toj negativnoj temperaturi se zaustavljaju svi fiziološki procesi te je pšenična trava bila zaštićena do početka laboratorijskih analiza.



**Slika 8.** Pšenična trava u klima komori tijekom trećeg seta pokusa; nakon promjene temperature na 30 °C.

### 3.2. Određivanje vitamina C

Ukupna koncentracija vitamina C u biljnoj tvari određena je prema protokolu Roe i Kuetheru (Roe i Kuether, 1943.) uz neke izmjene. Pripremljene su otopine TCA 13,3 % - trikloroctena kiselina,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  65 % - sulfatna kiselina, DNPH 2 % - 2,4 dinitrofenilhidrazin (2 g DNPH, 230 mg tiouree, 270 g  $\text{CuSO}_4$ , 100 mL 5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) i askorbinska kiselina (stock otopina) - osnovni standard za pravljenje baždarne krivulje (10 mg/100 mL). Lisna masa je macerirana tekućim dušikom te je u plastične epruvete od 15 mL vagano 0,5 g usitnjenog tkiva. U epruvete s lisnom masom dodano je 10 mL destilirane vode. Nakon ekstrakcije uzorci su centrifugirani 15 minuta na 4000 RCF pri temperaturi od 4 °C. Pipetirano je 150  $\mu\text{L}$  u dvije epruvete (2 mL) - za uzorak i za slijepu probu. U obje epruvete je dodano 175  $\mu\text{L}$  destilirane vode, 100  $\mu\text{L}$  13,3 % TCA i samo u uzorak 75  $\mu\text{L}$  DNPH te su pripremljeni ekstrakti inkubirani na 37 °C u trajanju od 2 sata. Nakon inkubacije u uzorak i slijepu probu dodano je 1000  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$ , s time da je u slijepu probu prije toga dodan i DNPH (75  $\mu\text{L}$ ). Standardi se pripremaju na isti način kao i uzorak, dakle DNPH se dodaje prije inkubacije. Od stock otopine askorbinske kiseline pripremljena su razrjeđenja s koncentracijama 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 275 g/mL. Svi uzorci

su vorteksirani te je na spektrofotometru Varian Cary 50 UV-Vis mjerena apsorbanca pri 520 nm u staklenoj kiveti od 1 cm.

Iz jednadžbe baždarnog pravca koja je dobivena mjerenjem apsorbanca standarda, preračunata je koncentracija vitamina C u uzorcima te je vrijednost koncentracije vitamina C u slijepim probama oduzeta od vrijednosti dobivenih u uzorcima. Vrijednosti koncentracije izražene su u mg vitamin C/100 g FW (svježe tvari).

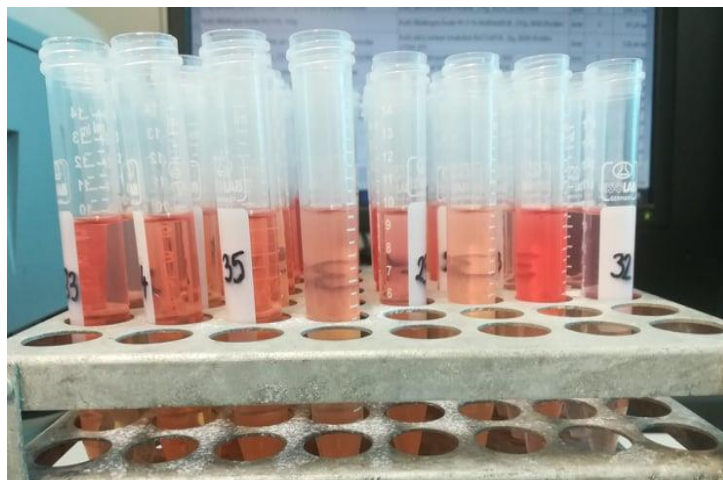
### **3.3. Određivanje lipidne peroksidacije (TBARS)**

Ukupna lipidna peroksidacija u biljnom tkivu određena je prema protokolu Heatha i Packera (1968.). Prvo su pripremljene otopine: 0,1 % trikloroetene kiseline (TCA) i 0,5 % tiobarbituratna kiselina (TBA) u 20%-noj otopini TCA. Zatim je biljno tkivo homogenizirano pomoću tekućeg dušika, a od toga je odvagano 0,2 g u epruvetu od 2 mL. Biljnom tkivu je dodano 0,5 mL 0,1 % TCA, uzorci su vorteksirani, a nakon toga i 10 minuta centrifugirani na 6000 rcf pri 4 °C. Nakon centrifugiranja, 0,5 mL supernatanta je odvojeno u kivetu s čepom na navoj te dodano 0,5 mL 0,5 % TBA u 20 % TCA. Tako pripremljeni uzorci su stavljeni u termalnu kupelj na 30 minuta na temperaturu od 95 °C. Nakon inkubacije (kuhanja), uzorci su ohlađeni na ledu te centrifugirani 15 minuta na 18000 rcf pri 4 °C. Uzorci su presipani u plastične kivete sa suženim dnom. ApSORBANCija je mjerena na 532 i 600 nm na spektrofotometru Varian Cary 50 UV-Vis.

### **3.4. Određivanje prolina**

Ukupna koncentracija prolina u biljnom tkivu određena je prema protokolu Batesa i sur. (1973.). Za određivanje prolina prvo je potrebno pripremiti uzorke tako da se 0,5 g biljnog materijala homogenizira tekućim dušikom te se zatim prelije s 10 mL sulfosalicilne kiseline. Otpipetira se 2 mL u epruvetu i doda 2 mL ninhidrin reagensa te 2 mL ledene octene kiseline. Smjesa se inkubira na 100 °C 1 h te se reakcija prekida prenošenjem epruveta na led. Nakon toga se prolin ekstrahira s po 4 mL toluena, uz snažno mućkanje 20 sekundi (Slika 9.). Klipnom pipetom je potrebno odvojiti toluenski sloj s ekstrahiranim prolinom u kivetu za spektrofotometar te mjeriti na 520 nm, uz podešavanje nule čistim toluenom, a 100 % transmisije sa standardom 0. Standardi se pripremaju pomoću 0,125 M HCl u volumenu od 50 mL. Osnovni standard: otopiti 10 mg prolina u 50 mL 1,125 M HCl, razrijediti vodom 10 puta tako da se dobije koncentracija od 20 µg prolina/mL (Slika 9.).

Sadržaj prolina računa se u  $\mu\text{g/g}$  FW tako da se koncentracija prolina s kalibracijskog dijagrama pomnoži s 5 te podijeli s odvagom uzorka u gramima.



**Slika 9.** Ekstrakcija prolina pomoću toluena.

### **3.5. Određivanje suhe tvari**

Nakon svakog seta pokusa, izvršen je otkos pšenične trave te je izvagano svježe tkivo svake biljke. Posebno su izvagane mase papirnatih vrećica u koje je spremljeno svježe tkivo. Prosječna masa svake vrećice bila je 2,35 g, a masa svježeg tkiva 3,00 g. Svježa masa pšenične trave u vrećicama je stavljena na sušenje u sušionik na 24 h pri 105 °C. Nakon sušenja, vrećice sa suhom tvari su izvagane na preciznoj vagi te je nakon toga izračunata masa suhe tvari pšenične trave.

### **3.6. Analiza i obrada podataka**

Svi prikupljeni podaci su analizirani pomoću programa za statističku obradu podataka SAS Enterprise Guide 7.1 (2017, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) te Microsoft Excel Office 2016. Utjecaj tretmana na ispitivana svojstva ispitan je pomoću monofaktorijske analize varijance (ANOVA), a razlike između srednjih vrijednosti ispitane su pomoću F – testa i testa najmanje značajne razlike (LSD; eng. *Least Significant Difference*).



#### 4. REZULTATI

Prema F testu, temperatura uzgoja pšenične trave kod sorte Katarina je značajno utjecala na sadržaj vitamina C, kod svih varijanti primiranja sjemena: H<sub>2</sub>O, NaHS, Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>+NaHS (Tablica 1.). Značajno najniži sadržaj vitamina C kod pšenice čije je sjeme primirano s H<sub>2</sub>O, utvrđen je pri 30 °C. U varijantama primiranja sjemena s NaHS i Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> te njihovim kombinacijama, najviši sadržaj vitamina C je utvrđen pri 20 °C, dok se vrijednosti ovog parametra utvrđene pri 10 °C i 30 °C nisu značajno razlikovale.

F testom je utvrđen statistički značajan utjecaj varijante primiranja sjemena na sadržaj vitamina C kod sorte Katarina, uzgajane pri 10 °C i 30 °C. Pri 10 °C, LSD testom je utvrđen značajno najveći sadržaj vitamina C u varijanti primiranja sjemena s H<sub>2</sub>O, dok se ostale tri varijante (NaHS, Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>+NaHS) nisu statistički značajno razlikovale. Pri 30 °C značajno najmanji sadržaj vitamina C je utvrđen u varijanti primiranja s H<sub>2</sub>O, dok se varijante sa sumporom i selenom te njihovom kombinacijom nisu međusobno značajno razlikovale.

Kod sorte pšenice Osječka 20, prema F testu je utvrđen značajan utjecaj temperature uzgoja na sadržaj vitamina C, kod svih varijanti primiranja sjemena. U svim varijantama primiranja sjemena, najviši sadržaj vitamina C je utvrđen pri 20 °C. Najniži sadržaj vitamina C kod pšenice sorte Osječka 20 čije je sjeme primirano s NaHS, utvrđen je pri 30 °C. Pri temperaturi od 10 °C najviši sadržaj vitamina C je imala pšenica čije je sjeme primirano s H<sub>2</sub>O, dok se ostale varijante primiranja nisu međusobno značajno razlikovale.

F testom je utvrđen značajan utjecaj varijante primiranja sjemena na sadržaj vitamina C kod sorte Osječka 20, uzgajane pri 10 i 30 °C. Pri 10 °C utvrđen je najviši sadržaj vitamina C kod varijante primiranja sjemena s H<sub>2</sub>O. Kod temperature od 30 °C, statistički značajno najniži sadržaj vitamina C bio je kod varijante primiranja s Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>, a ostale varijante se nisu međusobno značajno razlikovale.

Kod sorte pšenice Super Žitarka F testom je utvrđen statistički značajan utjecaj temperature na sadržaj vitamina C, za sve varijante primiranja sjemena (H<sub>2</sub>O, NaHS, Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>+NaHS). Najviša koncentracija vitamina C utvrđena je pri 20 °C, kod tretmana gdje je sjeme primirano s NaHS. Pri 30 °C značajno najniži sadržaj vitamina C utvrđen je kod pšenice čije je sjeme primirano s NaHS. Pri 10 °C najveća koncentracija vitamina C je utvrđena kod sjemena primiranog s NaHS.

**Tablica 1.** Sadržaj vitamina C (mg vitamin C/100 g svježe tvari) kod tri sorte pšenične trave (Katarina, Osječka 20, Super Žitarka), ovisno o predsjetvenom tretmanu sjemena (H<sub>2</sub>O, NaHS, Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>+NaHS) te uzgoju pri 10, 20 i 30 °C

Sorta pšenice		H <sub>2</sub> O	NaHS	Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub> +NaHS	F test <i>p</i> LSD
<b>Katarina</b>	10 °C	123,8 A/X	91,6 B/Y	89,6 BA/Y	100,3 BA/Y	11,85 0,0026 14,879
	20 °C	111 A/	127 A/	132,3 AB/	128,6 A/	2,28 0,1567
	30 °C	55,1 B/Y	82,1 B/X	84,7 B/X	87,7 B/X	30,88 <0,0001 8,8313
	<b>F test</b>	26,11	72,99	53,24	24,34	
	<b><i>p</i></b>	0,0011	<,0001	0,0002	0,0013	
	<b>LSD</b>	24,752	9,5868	12,427	14,681	
<b>Osječka 20</b>	10 °C	120,289 A/X	96,797 A/Y	95,763 BA/Y	88,360 BA/Y	12,78 0,0020 12,63
	20 °C	117,007 A/	120,307 B/	136,376 A/	136,788 A/	2,86 0,1042
	30 °C	71,334 B/Y	83,974 B/X	69,883 C/Y	83,040 B/XA	5,52 0,0238 10,38
	<b>F test</b>	16,78	14,89	90,04	201,80	
	<b><i>p</i></b>	0,0035	0,0047	<0,0001	<0,0001	
	<b>LSD</b>	23,119	16,522	12,223	7,2142	
<b>Super žitarka</b>	10 °C	117,708 A/Y	134,666 A/X	90,781 BA/Z	95,118 BA/Z	21,48 0,0003 14,408
	20 °C	135,955 A/	136,552 A/	131,155 A/	126,052 A/	0,48 0,7037
	30 °C	78,659 B/	66,532 B/	81,299 B/	74,578 B/	1,47 0,2948
	<b>F test</b>	26,31	36,44	59,73	16,02	
	<b><i>p</i></b>	0,0011	0,0004	0,0001	0,0039	
	<b>LSD</b>	19,747	22,869	11,854	22,399	

Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test. Razlike između varijanti predsjetvenog tretmana sjemena označene slovima (X, Y, Z) te razlike između temperature uzgoja označene slovima (A, B, C) se razlikuju prema LSD testu ( $p=0,05$ ).

F testom je utvrđen značajan utjecaj varijante primiranja sjemena pšenice sorte Super Žitarka, pri tretmanu od 10 °C. Pri toj temperaturi, najviši sadržaj vitamina C utvrđen je kod varijante sjemena primiranog s NaHS. Za istu varijantu primiranja, utvrđen je najniži sadržaj vitamina C pri 30 °C. Najveći sadržaj vitamina C utvrđen je pri 20 °C, za sve varijante primiranja sjemena. Prema F testu kod sorte Katarina, temperatura je značajno utjecala na stupanj lipidne peroksidacije (TBARS) kod svih varijanti primiranja sjemena, osim kod varijante s Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> (Tablica 2.). Najviši stupanj TBARS-a utvrđen je pri 20 °C kod pšenice gdje je sjeme primirano s H<sub>2</sub>O. Na temperaturi od 10 °C, najviši stupanj lipidne peroksidacije utvrđen je kod sorte Katarina čije je sjeme primirano kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i NaHS. Pri 30 °C utvrđen je statistički značajno najniži stupanj lipidne peroksidacije kod varijante primiranja s NaHS.

F testom je utvrđen statistički značajan utjecaj varijante primiranja sjemena sorte Katarina na stupanj lipidne peroksidacije, pri svim primijenjenim temperaturama (10, 20 i 30 °C). Najviši stupanj TBARS-a utvrđen je pri 20 °C kod varijante primiranja s H<sub>2</sub>O, dok je kod iste varijante primiranja pri 30 °C, utvrđen najniži stupanj. Pri 10 °C značajno najviši stupanj lipidne peroksidacije utvrđen je kod pšenice čije je sjeme primirano s kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i NaHS.

Kod sorte pšenice Osječka 20 je utvrđen značajan utjecaj temperature na stupanj lipidne peroksidacije pri svim varijantama primiranja sjemena, osim kod varijante primirane s H<sub>2</sub>O. Pri 30 °C je utvrđen statistički značajno najniži stupanj lipidne peroksidacije kod varijanti primiranja s NaHS i s Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>, dok je pri 20 °C kod varijante primiranja njihovom kombinacijom utvrđen značajno najviši stupanj lipidne peroksidacije.

Prema F testu je utvrđen statistički značajan utjecaj varijante primiranja sjemena sorte Osječka 20 na stupanj lipidne peroksidacije samo pri 20 °C. Kod te primijenjene temperature je utvrđen značajno najniži stupanj lipidne peroksidacije kod varijante primiranja sjemena s kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i NaHS.

Kod sorte Super žitarka F testom je utvrđen značajan utjecaj temperature na stupanj TBARS-a za sve varijante primiranja sjemena (H<sub>2</sub>O, NaHS, Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>+NaHS). Pri 30 °C je utvrđen najniži stupanj TBARS-a za sve varijante primiranja sjemena, dok se pri 10 i 20 °C njihove vrijednosti nisu značajno razlikovale. Prema F testu je utvrđen značajan utjecaj varijante primiranja sjemena sorte Super Žitarka na stupanj lipidne peroksidacije samo pri 20 °C. Pri toj temperaturi značajno najniži stupanj lipidne peroksidacije je utvrđen kod varijante primiranja

sjemena kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i NaHS, dok se ostale varijante nisu međusobno značajno razlikovale.

**Tablica 2.** Stupanj lipidne peroksidacije (TBARS) (nmol/g svježe tvari), kod tri sorte pšenične trave (Katarina, Osječka 20, Super Žitarka), ovisno o predstjetvenom tretmanu sjemena (H<sub>2</sub>O, NaHS, Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>+NaHS) te uzgoju pri 10, 20 i 30 °C

Sorta pšenice		H <sub>2</sub> O	NaHS	Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub> +NaHS	F test <i>p</i> LSD
<b>Katarina</b>	10 °C	18,397 B/Y	19,6712 A/Y	19,144 /Y	22,419 A/X	16.52 0.0009 1.4071
	20 °C	26,489 A/X	17,3916 B/Y	19,443 /Y	12,927 B/Y	7.84 0.0091 6.5788
	30 °C	12,948 B/Y	15,0205 C/X	16,295 /X	16,042 B/X	6.56 0.0150 1.9374
	<b>F test</b>	11,92	25,37	2,63	26,39	
	<b><i>p</i></b>	0,,0081	0,0012	0,1516	0,0011	
	<b>LSD</b>	6,8294	1,5978		3,2592	
<b>Osječka 20</b>	10 °C	19,242	19,8157 B/	19,795 A/	19,068 A/	0.24 0.8637
	20 °C	21,878 /X	23,2289 A/X	18,623 A/XY	12,248 B/Y	5.50 0.0240 6.8072
	30 °C	13,196	13,8314 C/	12,296 B/	15,470 B/	2.95 0.0985
	<b>F test</b>	3,87	61,71	17,67	11,48	
	<b><i>p</i></b>	0,0832	<0,0001	0,0031	0,0089	
	<b>LSD</b>		2,0955	3,321	3,4843	
<b>Super žitarka</b>	10 °C	18,318 A/	19,718 A/	18,590 A/	21,418 A/	1.10 0.4021
	20 °C	22,239 A/X	18,260 A/XY	21,301 A/X	14,742 B/Y	5.67 0.0222 4.6377
	30 °C	12,333 B/	11,650 B/	13,730 B/	13,420 B/	1.00 0.4396
	<b>F test</b>	16,49	14,91	7,49	11,40	
	<b><i>p</i></b>	0,0036	0,0047	0,0234	0,0090	
	<b>LSD</b>	4,2513	3,8524	4,8499	4,3943	

Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test. Razlike između varijanti predstjetvenog tretmana sjemena označene slovima (X, Y, Z) te razlike između temperature uzgoja označene slovima (A, B, C) se razlikuju prema LSD testu ( $p=0,05$ ).

F testom je utvrđen značajan utjecaj temperature na sadržaj prolina kod svih varijanti primiranja sjemena sorte pšenice Katarina (Tablica 3.). Pri 20 °C je utvrđen značajno najveći sadržaj prolina kod svih varijanti primiranja sjemena. Kod varijante primirane s H<sub>2</sub>O i kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i NaHS utvrđen je značajno najmanji sadržaj prolina pri 30 °C.

Kod sorte Katarina utvrđen je statistički značajan utjecaj varijante primiranja sjemena pšenice pri 10 i 20 °C. Pri tim temperaturama utvrđen je najveći sadržaj prolina kod varijante primiranja sjemena s kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i NaHS pri 10 i 20 °C, dok se ostale varijante nisu međusobno značajno razlikovale.

Prema F testu kod sorte pšenice Osječka 20 utvrđen je značajan utjecaj temperature na sve varijante primiranja sjemena osim na varijantu primiranu s NaHS. LSD testom je utvrđen značajno veći sadržaj prolina pri svim varijantama primiranja pri temperaturi 10 °C. Pri 20 °C je utvrđen statistički značajno manji sadržaj prolina kod varijanti primiranih s H<sub>2</sub>O te Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>, dok je najveći sadržaj utvrđen kod varijante primirane s kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i NaHS. Najmanji sadržaj prolina utvrđen je kod sorte Osječka 20 pri 30 °C u varijanti gdje je sjeme primirano vodom.

Pri 30 °C je utvrđen značajan utjecaj varijanti primiranja na sadržaj prolina kod sorte Osječka 20. Pri toj temperaturi je utvrđen najveći sadržaj prolina kod varijante gdje je sjeme primirano s NaHS, dok se vrijednosti ostalih varijanti primiranja međusobno nisu značajno razlikovale.

Kod sorte Super Žitarka utvrđen je statistički značajan utjecaj temperature na sadržaj prolina za varijante primirane vodom i kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> sa NaHS. Značajno najveći sadržaj prolina utvrđen je pri 20 °C kod sorte Super Žitarka čije je sjeme bilo primirano vodom. Kod iste varijante primiranja sjemena utvrđen je značajno manji sadržaj prolina pri 10 °C, dok se ostale varijante pri toj temperature nisu međusobno značajno razlikovale. Pri 30 °C je utvrđen najmanji sadržaj prolina kod varijante Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>+NaHS.

F testom je kod sorte Super Žitarka utvrđen značajan utjecaj varijante primiranja sjemena pri 10 i 30 °C. LSD testom je utvrđen najniži sadržaj prolina kod sjemena primiranog vodom pri 10 °C. Značajno najviši sadržaj prolina pri 30 °C je utvrđen kod varijante čije je sjeme primirano s NaHS.

**Tablica 3.** Sadržaj prolina ( $\mu\text{mol/g}$  svježe tvari) kod tri sorte pšenične trave (Katarina, Osječka 20, Super Žitarka), ovisno o predstjetvenom tretmanu sjemena ( $\text{H}_2\text{O}$ , NaHS,  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  i  $\text{Na}_2\text{SeO}_4+\text{NaHS}$ ) te uzgoju pri 10, 20 i 30 °C

Sorta pšenice		$\text{H}_2\text{O}$	NaHS	$\text{Na}_2\text{SeO}_4$	$\text{Na}_2\text{SeO}_4+\text{NaHS}$	F test <i>p</i> LSD
Katarina	10 °C	0,560 BA/Y	0,449 BA/Y	0,420 BA/Y	0,901 BA/X	12,26 0,0023 0,2056
	20 °C	0,898 A/Y	0,829 A/YZ	0,655 A/Z	1,289 A/X	13,97 0,0015 0,2336
	30 °C	0,277 C/	0,299 B/	0,331 B/	0,339 C/	2,32 0,1522
	<b>F test</b>	21,63	23,59	13,61	78,22	
	<b><i>p</i></b>	0,0018	0,0014	0,0059	<0,0001	
	<b>LSD</b>	0,2316	0,1947	0,1571	0,1868	
Osječka 20	10 °C	0,9722 A/	0,9511	1,023 A/	1,0860 A/	0,29 0,8286
	20 °C	0,5482 B/	0,8113	0,57564 B/	0,8841 A/	1,37 0,3212
	30 °C	0,3360 B/Y	0,4682 /X	0,36306 C/Y	0,3664 B/Y	4,90 0,0321 0,0856
	<b>F test</b>	7,06	3,33	36,16	16,60	
	<b><i>p</i></b>	0,0265	0,1066	0,0004	0,0036	
	<b>LSD</b>	0,422		0,1938	0,3153	
Super žitarka	10 °C	0,3723 BA/Y	0,7508 /X	0,7752 /X	0,9482 A/X	7,74 0,0095 0,2845
	20 °C	1,5360 A/	0,6559	1,4630	0,8120 A/	1,20 0,3713
	30 °C	0,3079 B/Y	0,4272 /X	0,3492 /Y	0,3074 B/Y	5,64 0,0225 0,0774
	<b>F test</b>	6,59	1,92	2,44	6,46	
	<b><i>p</i></b>	0,0306	0,2270	0,1680	0,0319	
	<b>LSD</b>	0,9318			0,4598	

Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test. Razlike između varijanti predstjetvenog tretmana sjemena označene slovima (X,Y,Z) te razlike između temperature uzgoja označene slovima (A,B,C) se razlikuju prema LSD testu ( $p=0,05$ ).

Kod sorte Katarina, u prosjeku za sve varijante primiranja sjemena ( $\text{H}_2\text{O}$ , NaHS,  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  i  $\text{Na}_2\text{SeO}_4+\text{NaHS}$ ), utvrđen je značajan utjecaj temperature na sadržaj suhe tvari pšenične trave (Tablica 4.). Pri 30 °C LSD testom je utvrđen značajno niži sadržaj suhe tvari u svim

varijantama primiranja sjemena., dok se vrijednosti pri 10 i 20 °C nisu međusobno značajno razlikovale. Najveći sadržaj suhe tvari je utvrđen pri 20 °C, kod varijante gdje je sjeme sorte Katarina bilo primirano kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i NaHS.

Niti pri jednoj od primijenjenih temperatura (10, 20 i 30 °C), prema F testu nije utvrđen značajan utjecaj varijante primiranja sjemena sorte Katarina na sadržaj suhe tvari ( $p>0,05$ ).

U prosjeku za sve varijante primiranja sjemena sorte pšenice Osječka 20 je utvrđen značajan utjecaj temperature na sadržaj suhe tvari. Pri 30 °C je utvrđen značajno niži sadržaj suhe tvari, za sve varijante primiranja sjemena. Značajno veći sadržaj suhe tvari je utvrđen pri 20 °C, u svim varijantama primiranja sjemena sorte Osječka 20, dok se pri 10 °C vrijednosti nisu međusobno značajno razlikovale.

Prema F testu je utvrđen statistički značajan utjecaj varijante primiranja sjemena sorte Osječka 20 na sadržaj suhe tvari, pri svim temperaturama. Pri 20 °C je utvrđen značajno viši sadržaj suhe tvari, a pri 30 °C značajno niži sadržaj, za sve varijante primiranja sjemena.

F testom je utvrđen značajan utjecaj temperature na sadržaj suhe tvari kod sorte Super Žitarka, za sve varijante primiranja sjemena. Pri 30 °C LSD testom je utvrđen značajno niži sadržaj suhe tvari u svim varijantama primiranja sjemena, dok se vrijednosti pri 10 i 20 °C nisu međusobno značajno razlikovale. Najviši sadržaj suhe tvari je utvrđen pri 20 °C, kod varijante gdje je sjeme pšenice Super Žitarka bilo primirano s H<sub>2</sub>O.

Varijante primiranja sjemena sorte Super Žitarka nisu značajno utjecale ( $p>0,05$ ) na sadržaj suhe tvari pri 10, 20 i 30 °C.

**Tablica 4.** Sadržaj suhe tvari (%) kod tri sorte pšenične trave (Katarina, Osječka 20, Super Žitarka), ovisno o predsjetvenom tretmanu sjemena (H<sub>2</sub>O, NaHS, Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>+NaHS) te uzgoju pri 10, 20 i 30 °C

Sorta pšenice		H <sub>2</sub> O	NaHS	Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub> +NaHS	F test <i>p</i> LSD
<b>Katarina</b>	10 °C	12,0055 BA/	11,29 A/	11,7727 BA/	12,3339 BA/	1,60 0,2653
	20 °C	13,0675 A/	13,1978 B/	13,4493 A/	13,7003 A/	0,95 0,4605
	30 °C	7,3778 C/	7,3817 C/	7,9861 C/	7,8787 C/	2,05 0,1861
	<b>F test</b>	125,67	98,06	84,95	108,66	
	<b><i>p</i></b>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	<b>LSD</b>	0,9339	1,0359	1,0508	1,0106	
<b>Osječka 20</b>	10 °C	11,7851 BA/Y	12,5673 BA/X	11,4824 BA/Y	12,5223 BA/X	11,13 0,0032 0,5285
	20 °C	13,4620 A/Y	13,4496 A/Y	13,1157 A/Y	14,3612 A/X	8,01 0,0086 0,6153
	30 °C	8,2971 C/X	8,0518 C/YX	7,3404 C/Z	7,7183 C/YZ	6,53 0,0153 0,5303
	<b>F test</b>	916,73	258,11	602,24	186,85	
	<b><i>p</i></b>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	<b>LSD</b>	0,3011	0,6237	0,4198	0,8683	
<b>Super žitarka</b>	10 °C	11,6997 A/	11,0603 BA/	11,4033 BA/	12,0296 A/	2,36 0,1471
	20 °C	13,0474 A/	12,2822 A/	13,3519 A/	12,8089 A/	1,27 0,3479
	30 °C	7,7093 B/	8,2205 C/	7,3822 C/	7,5005 B/	1,17 0,3811
	<b>F test</b>	188,88	50,31	92,91	34,11	
	<b><i>p</i></b>	<0,0001	0,0002	<,0001	0,0005	
	<b>LSD</b>	0,699	1,0166	1,0929	1,6985	

Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test. Razlike između varijanti predsjetvenog tretmana sjemena označene slovima (X, Y, Z) te razlike između temperature uzgoja označene slovima (A, B, C) se razlikuju prema LSD testu ( $p=0,05$ ).



## 5. RASPRAVA

Biofortifikacija pšenične trave je jedan od važnih postupaka kojima se utječe na kvalitetan rast i razvoj biljke te povećava nutritivna vrijednost završnog proizvoda. Takvim obogaćivanjem biljaka kemijskim tvarima, kao što su npr. selen i sumpor, povećava se i otpornost usjeva na različite stresne uvjete. Jedan od glavnih limitirajućih čimbenika za nesmetan rast i razvoj biljaka je temperatura. Ukoliko je viša od optimalne, biljkama se oštećuju stanice i dolazi do uvenuća, pogotovo jer je uz visoke temperature povezan i nedostatak vode pa su biljke izložene i sušnom stresu. Posljedica većine tih nepovoljnih abiotskih uvjeta je i oksidativni stres na staničnoj i molekularnoj razini. Zbog toga biljni metabolizam daje fiziološki odgovor u vidu sinteze različitih zaštitnih i antioksidativnih molekula te tako biljke postižu otpornost na stresne uvjete. Takvu zaštitnu ulogu imaju signalne komponente stresa kao što su vitamin C, lipidni peroksidi i prolin, čiji je sadržaj ispitivan u ovom istraživanju.

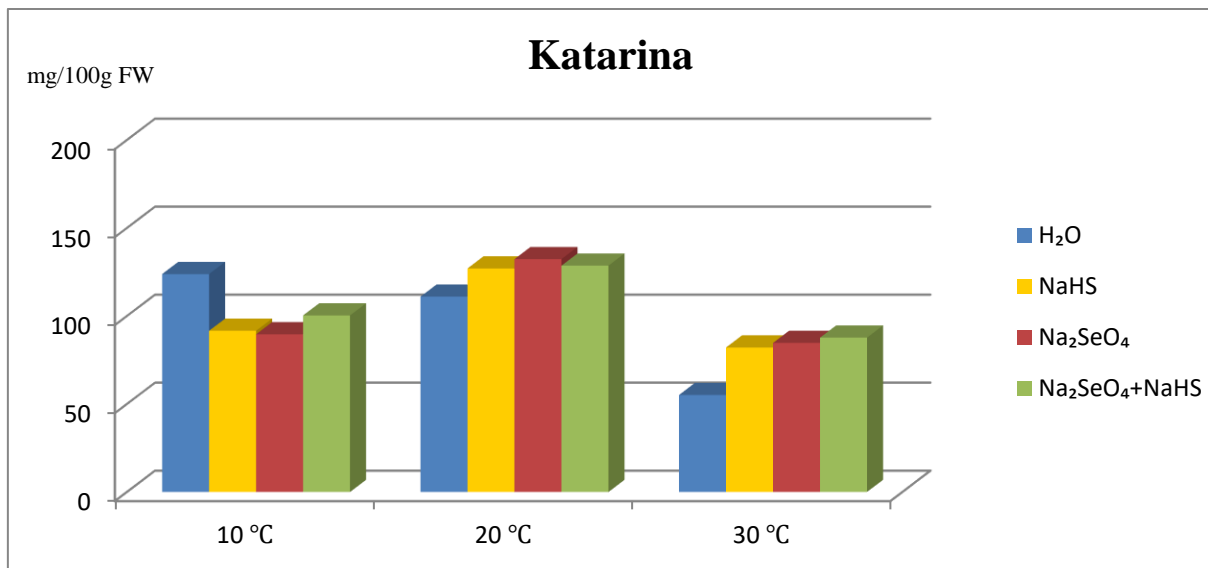
Vitamin C ili askorbinska kiselina je jedan od glavnih antioksidansa u svim živim bićima, a njegovu zaštitnu ulogu u biljkama su istražili mnogi znanstvenici. Wang i sur. (2010.) proveli su istraživanje na *Arabidopsis thaliana* L. gdje su biljke izložili temperaturnom stresu. Prije izlaganja visokoj temperaturi, biljke su sadržavale vitamin C u koncentraciji od 2-6  $\mu\text{mol}$  vitamina C/g svježe tvari. Nakon izlaganja temperaturnom stresu, uočili su povećanje sadržaja vitamina C za 20-30 %, točnije u biljnoj masi je utvrđena prosječna koncentracija od 8  $\mu\text{mol}$  vitamina C/g svježe tvari. Hodges i sur. (1996.) su izložili biljke kukuruza (*Zea mays* L.) hladnom tretmanu od 11 °C te su uočili smanjivanje sadržaja vitamina C u fazama do trećeg i petog razvijenog lista. Naime, koncentracija je u početnom stadiju razvoja bila viša od kontrolne skupine (25 °C), a kada su biljke razvile treći i peti list, koncentracija vitamina C se smanjila za 50 %.

U ovom je istraživanju također utvrđen značajan utjecaj temperature na sadržaj vitamina C u svježoj biljnoj tvari. Sadržaj askorbinske kiseline je bio manji kod temperaturnog stresa pri 30 °C, u prosjeku za sve tri sorte (Katarina, Osječka 20 i Super žitarka), u usporedbi s optimalnih 20 °C te stresom izazvanim pri 10 °C (Grafikon 1., 2. i 3.). Najveće koncentracije vitamina C utvrđene su u kontrolnoj skupini (20 °C), gdje biljke nisu bile izložene temperaturnom stresu.

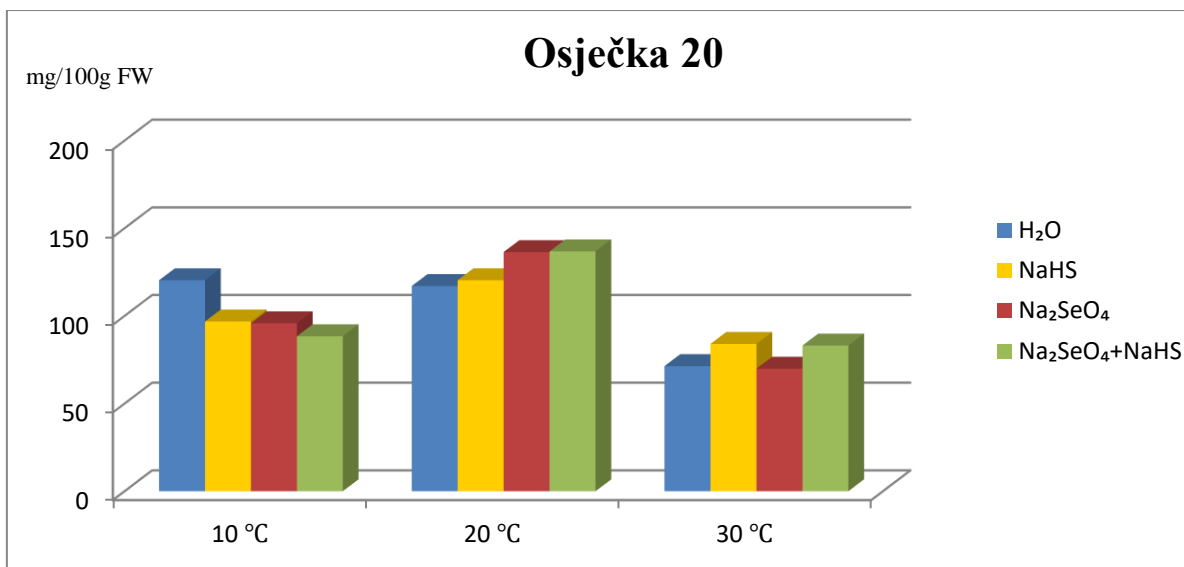
Također, dokazan je i značajan utjecaj varijante primiranja sjemena pšenice na ukupan sadržaj vitamina C u svježoj tvari. Kod sorte Katarina i Osječka 20 pri 10 °C, najveći sadržaj vitamina

C je utvrđen kod varijante primiranja vodom, a kod sorte Super Žitarka je najbolje rezultate pokazala varijanta s natrijevim hidrogensulfidom. Pri 30 °C, u prosjeku za sve tri sorte pšenice je sadržaj vitamina C bio podjednak kod svih primijenjenih varijanti primiranja sjemena, osim kod sorte Katarina gdje je najmanji sadržaj utvrđen kod varijante primiranja vodom. Za sve tri sorte varijante primiranja sjemena nisu pokazale značajan utjecaj pri 20 °C.

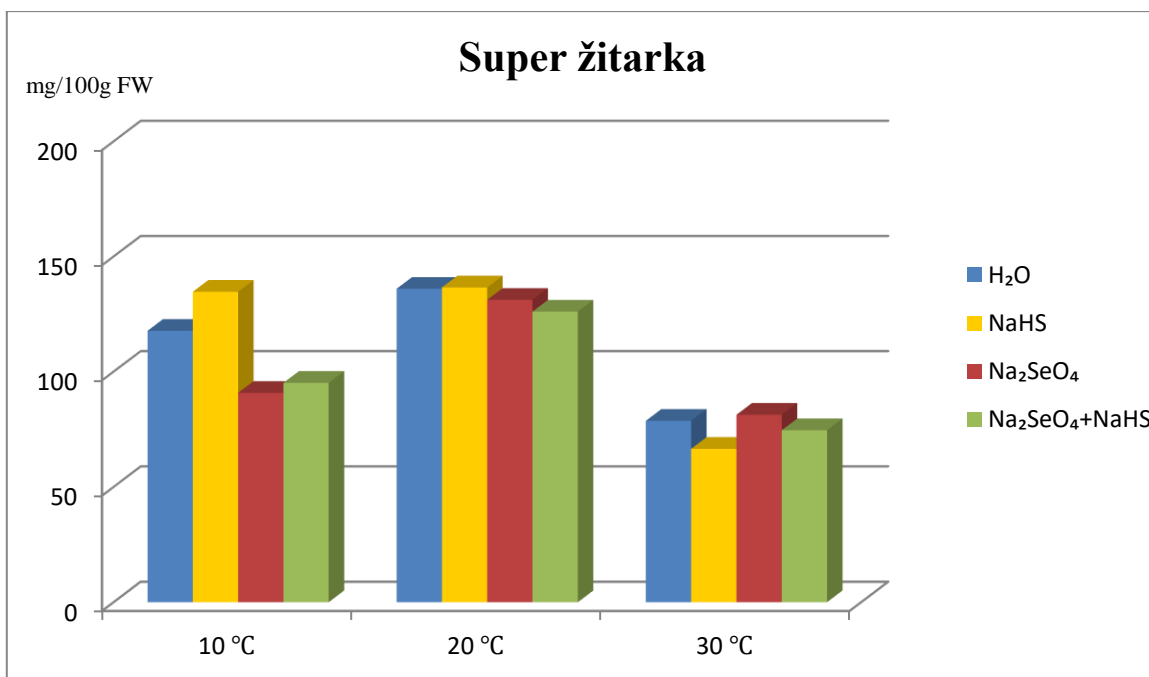
S obzirom da je važan antioksidans, a ljudski metabolizam ga ne može sam sintetizirati, sadržaj vitamina C u biljkama je od iznimne važnosti, a u većini usjeva ga nema u dostatnim količinama. Zbog toga su provedena istraživanja biofortificiranja biljaka s vitaminom C. Biofortificirane biljke su imale veću nutritivnu vrijednost, ali su pokazale i veću otpornost na različite vrste stresa kao što su sušni i temperaturni stres te biotski stres uzrokovan napadima patogena. Vitamin C ima važnu ulogu u procesu fotosinteze pa je i njegova sinteza ovisna o količini i vrsti svjetlosti. Zbog toga vjerojatno, uslijed manje Sunčeve radijacije u staklenicima, biljke pokazuju manji sadržaj vitamina C od onih koje se uzgajaju u poljskim uvjetima (Paciolla i sur., 2019.).



**Grafikon 1.** Utjecaj temperature i varijante primiranja sjemena na sadržaj vitamina C (mg/100g FW) u lišću pšenične trave sorte sorte Katarina.



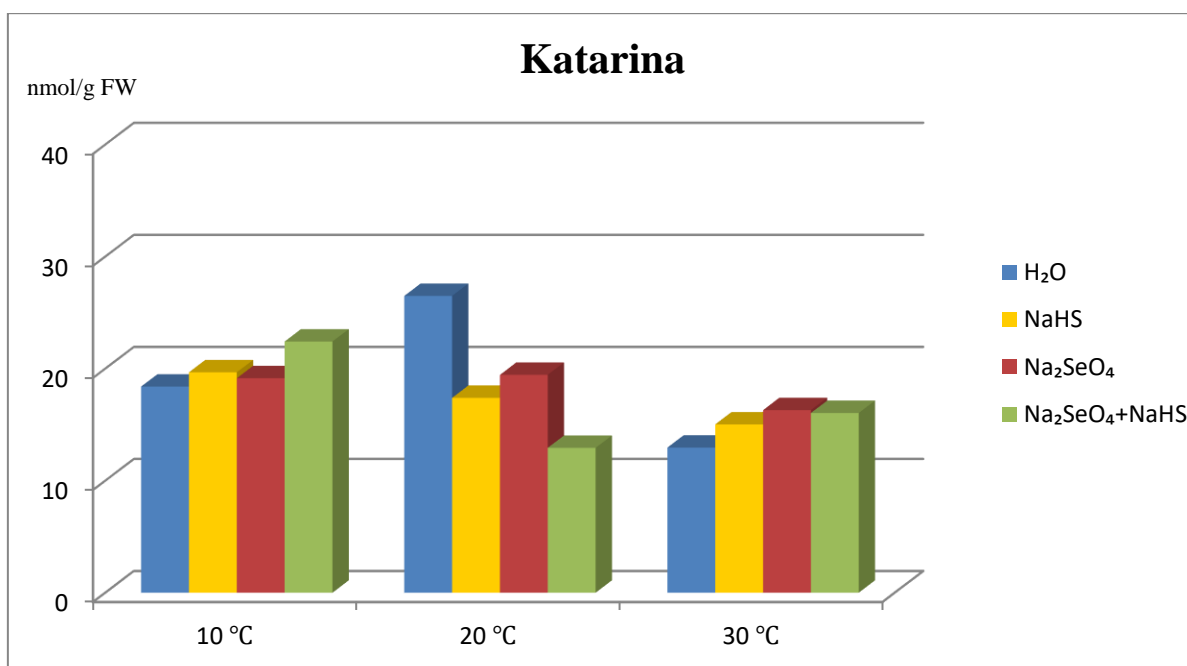
**Grafikon 2.** Utjecaj temperature i varijante primiranja sjemena na sadržaj vitamina C (mg/100g FW) u lišću pšenične trave sorte Osječka 20.



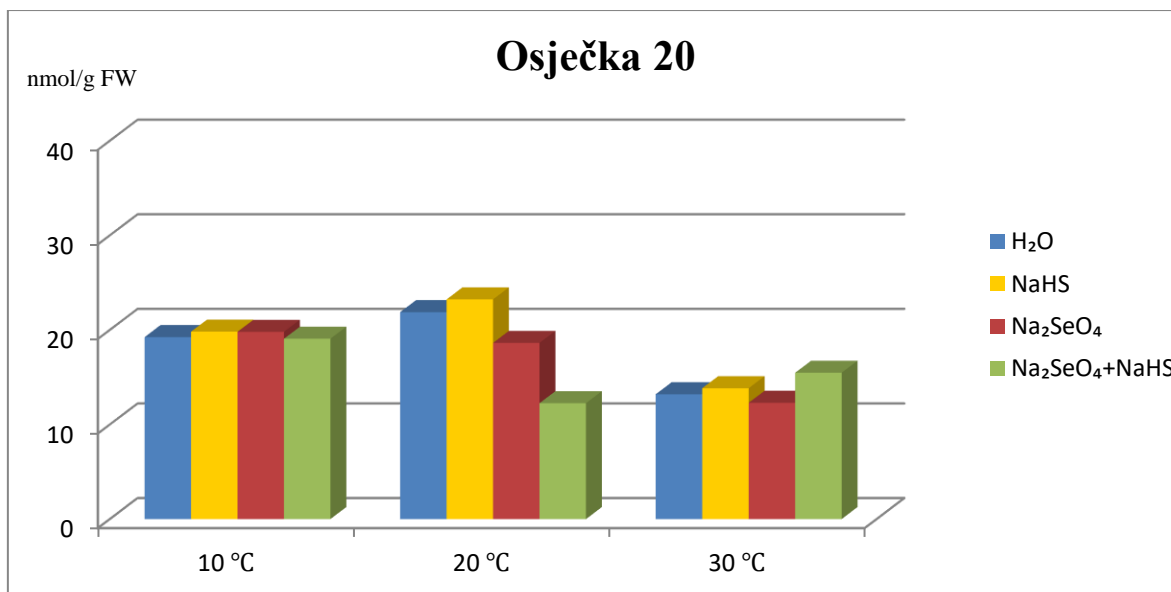
**Grafikon 3.** Utjecaj temperature i varijante primiranja sjemena na sadržaj vitamina C (mg/100g FW) u lišću pšenične trave sorte Super Žitarka.

Lipidna peroksidacija ili TBARS (eng. *thiobarbituric acid reactive substances*) se smatra procesom u živim bićima koji najviše oštećuje stanične membrane. Oštećenje membrane se ponekad uzima kao jedini parametar za određivanje stupnja uništenja lipida u stresnim uvjetima (Gill i Tuteja, 2010.). Chu i sur. (2009.) proveli su istraživanje na pšenici koju su biofortificirali natrijevim selenitom ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) te biljke izložili hladnom tretmanu od 4 °C. Koncentracija malondialdehida (MDA), koji nastaje tijekom lipidne peroksidacije, proporcionalno se smanjivala s većim dodanim dozama natrijevog selenita. Tako su utvrdili pozitivan učinak selena na smanjenje stupnja lipidne peroksidacije pri temperaturnom stresu uzrokovanog nižim temperaturama.

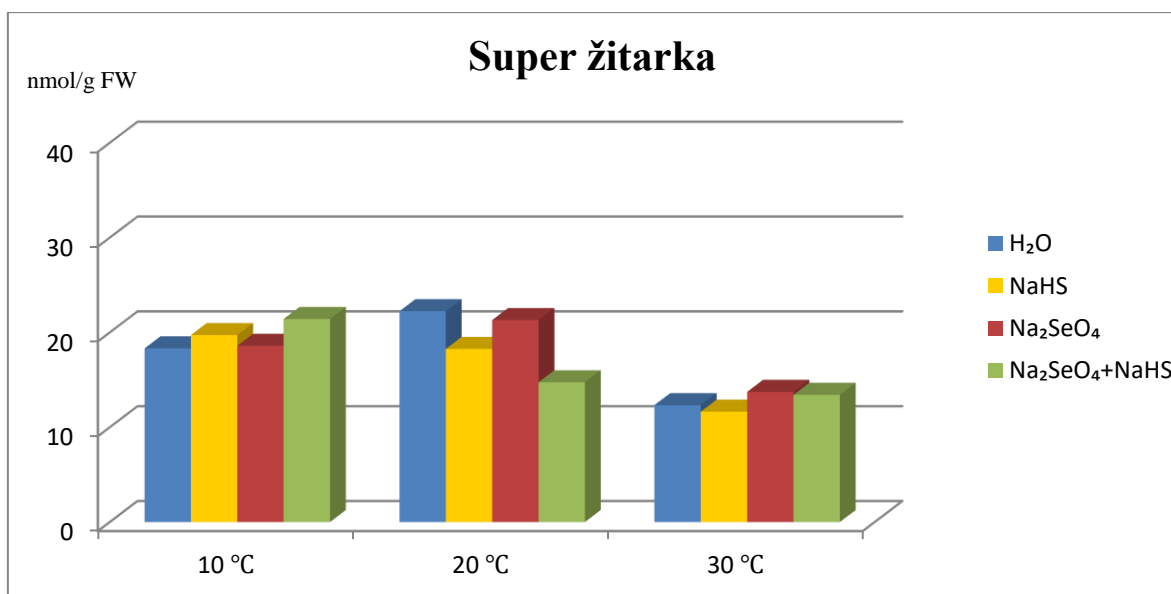
U ovom istraživanju je najniži stupanj lipidne peroksidacije u prosjeku za sve tri sorte pšenice bio pri 30 °C, što ukazuje na to da su biljke doživile veći stres pri 10 °C (Grafikon 4., 5. i 6.). Najveći stupanj lipidne peroksidacije je utvrđen kod sorte Katarina pri 20 °C gdje je sjeme pšenice primirano vodom. Kod te sorte je pri 10 °C utvrđen veći stupanj TBARS-a kod sjemena primiranog kombinacijom  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  i NaHS. Kod sorte Osječka 20 i Super Žitarka pri 10 i 30 °C nije utvrđen statistički značajan utjecaj varijante primiranja sjemena na stupanj lipidne peroksidacije.



**Grafikon 4.** Utjecaj temperature i varijante primiranja sjemena na stupanj lipidne peroksidacije (nmol/g FW) u lišću pšenične trave kod sorte Katarina.



**Grafikon 5.** Utjecaj temperature i varijante primiranja sjemena na stupanj lipidne peroksidacije (nmol/g FW) u lišću pšenične trave kod sorte Osječka 20.

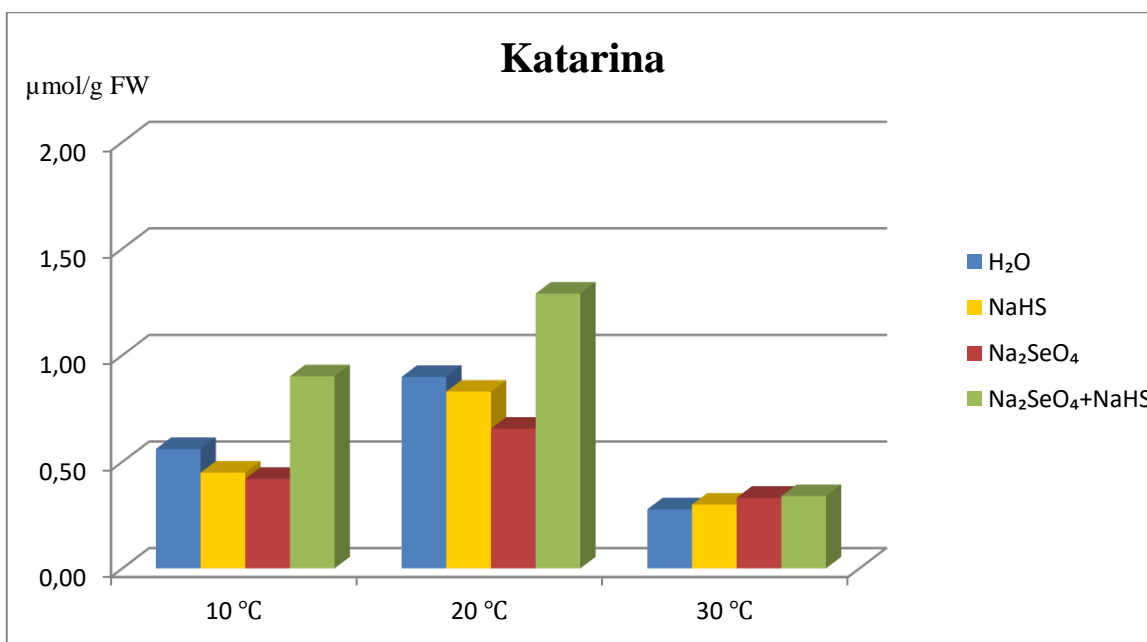


**Grafikon 6.** Utjecaj temperature i varijante primiranja sjemena na stupanj lipidne peroksidacije (nmol/g FW) u lišću pšenične trave kod sorte Super Žitarka.

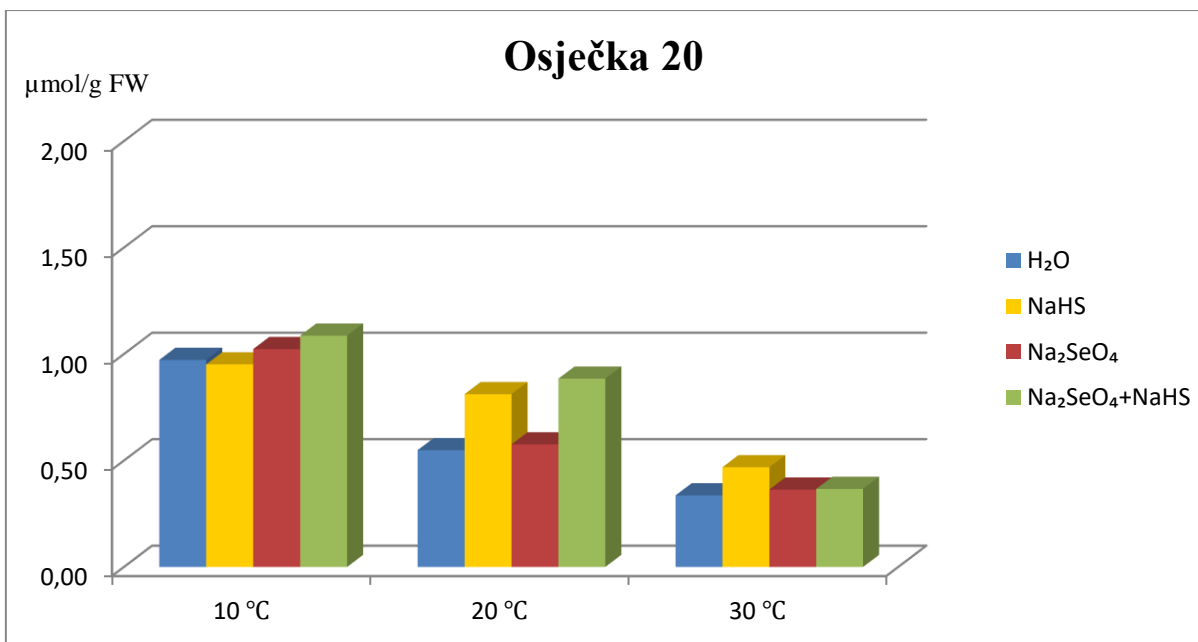
Aminokiselina prolin ima iznimno važnu i korisnu ulogu u biljkama pod stresnim uvjetima. Uz to što je osmolit, prolin ima tri važne uloge tijekom stresa u vidu: metal kelatora, antioksidativne

te signalne molekule (Hayat i sur., 2012.). Ali i sur. (2010.) su dokazali da je egzogeni prolin apliciran na sjeme kukuruza (*Zea mays* L.) rezultirao povećanim rastom biljke u uvjetima suše. Isti znanstvenici navode kako predstjetveni tretman prolinom ublažava nepovoljne učinke sušnog stresa kod pšenice (*Triticum aestivum* L.). Imbibicija sjemena pšenice ili folijarna gnojidba selenom, pozitivno utječe na povećanu sintezu prolina, koji ima tipičan mehanizam biokemijskih prilagodbi živih bića na različite stresne uvjete, kao što je stres uzrokovan visokom i niskom temperaturom (Chu i sur., 2009.).

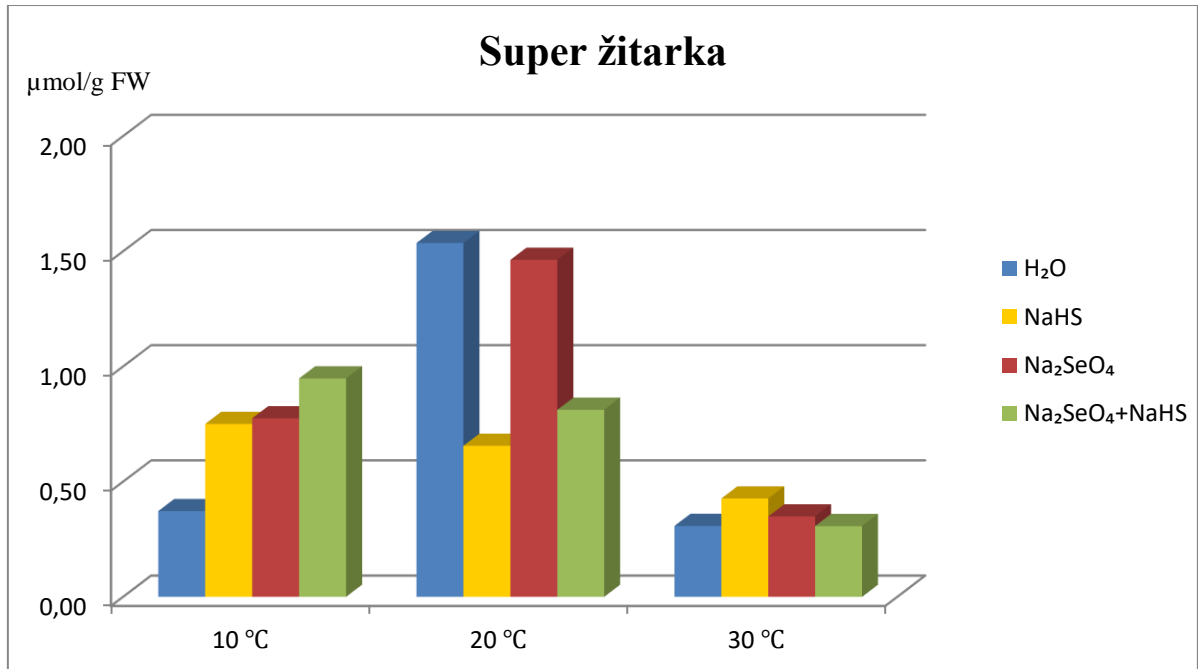
U ovom istraživanju je statistički značajno najviši sadržaj prolina utvrđen kod sorte Super Žitarka pri 20 °C, a najniži sadržaj je utvrđen kod sorte Katarina pri 30 °C. (Grafikon 7., 8. i 9.). Kod sorte Katarina i Super Žitarka najveće vrijednosti prolina su utvrđene pri 20 °C, a kod sorte Osječka 20 pri 10 °C. U prosjeku za sve tri sorte najniže vrijednosti prolina bile su pri 30 °C kod varijante primiranja vodom. Tretman primiranja sjemena kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i NaHS je kod svih sorti pokazao najveći utjecaj na sadržaj prolina.



**Grafikon 7.** Utjecaj temperature i varijante primiranja sjemena na sadržaj prolina (µmol/g FW) u lišću pšenične trave kod sorte Katarina.



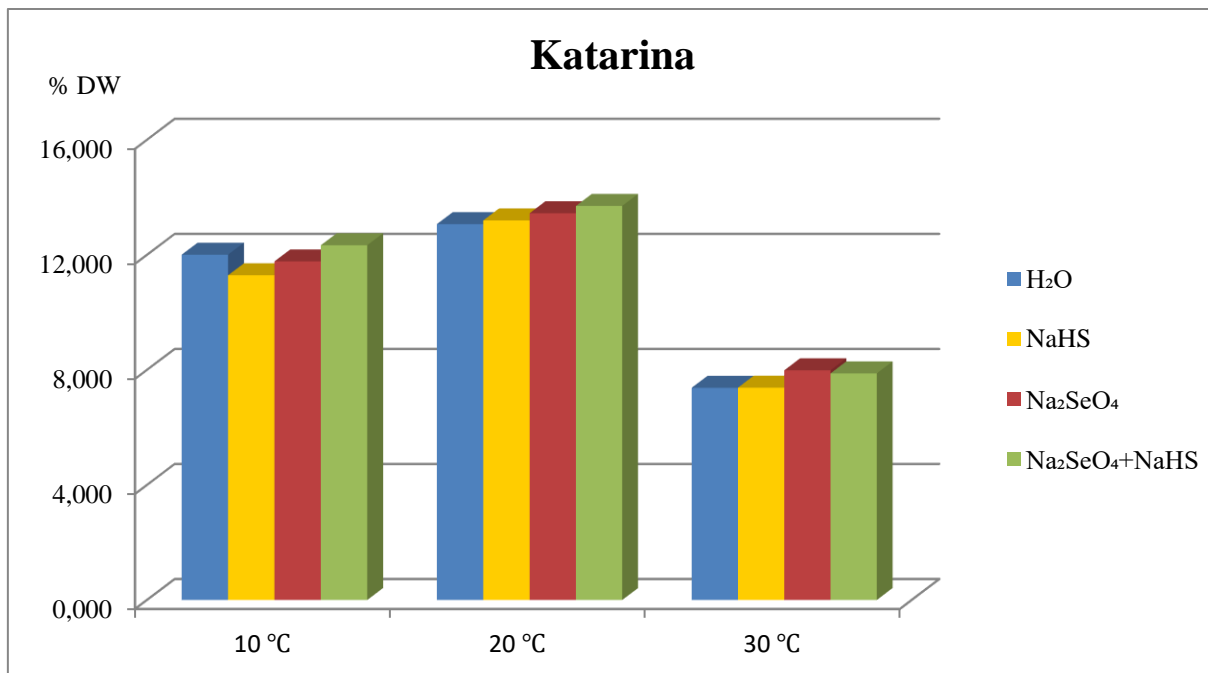
**Grafikon 8.** Utjecaj temperature i varijante primiranja sjemena na sadržaj prolina ( $\mu\text{mol/g}$  FW) u lišću pšenične trave kod sorte Osječka 20.



**Grafikon 9.** Utjecaj temperature i varijante primiranja sjemena na sadržaj prolina ( $\mu\text{mol/g}$  FW) u lišću pšenične trave kod sorte Super Žitarka.

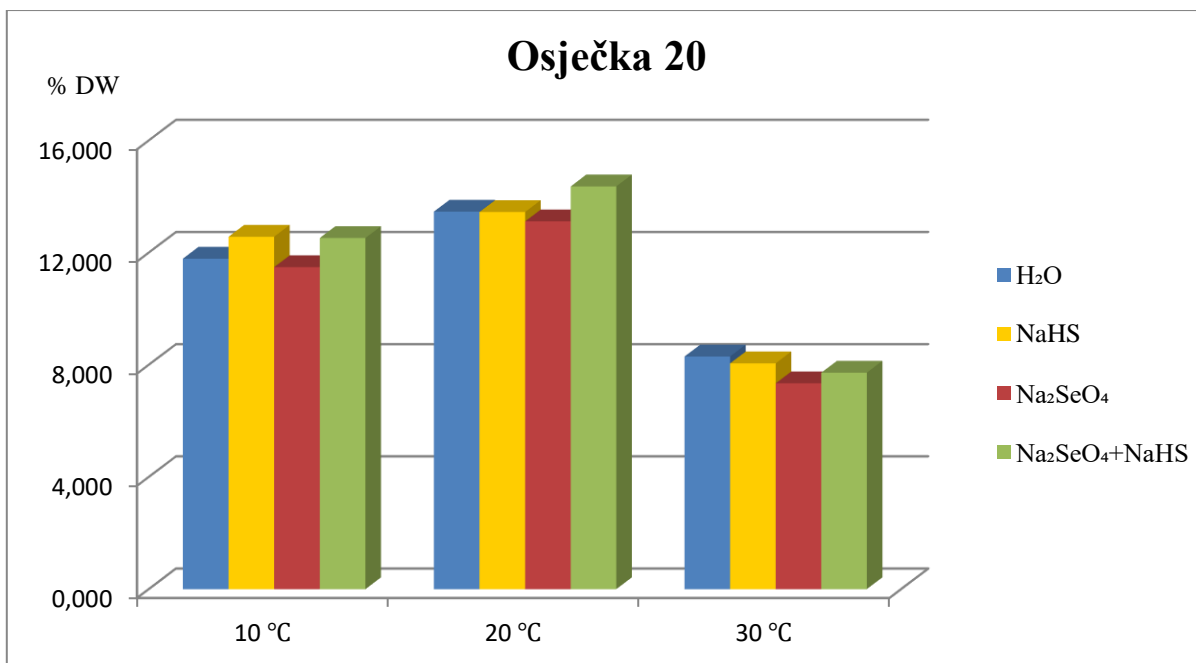
Značajan utjecaj na sadržaj suhe tvari kod sve tri sorte (Katarina, Osječka 20 i Super Žitarka) je imala temperatura, a pri 30 °C je utvrđen manji sadržaj (Grafikon 10., 11. i 12.). Značajno veći sadržaj suhe tvari je utvrđen kod sve tri sorte pri 20 °C. Kod sorte Katarina i Super Žitarka varijanta primiranja sjemena nije značajno utjecala na sadržaj suhe tvari. Kod sorte Osječka je najveći utjecaj na sadržaj suhe tvari imala varijanta primiranja sjemena s kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i NaHS.

Istraživanja mnogih znanstvenika dokazuju smanjenje sadržaja suhe tvari pri temperaturnom stresu uslijed povišene temperature. Gibson i Paulsen (1999.) su uzgajali različite kultivare pšenice (*Triticum aestivum* L.) u četiri komore te su u svakoj komori postavili različite temperature: 20/20, 25/20, 30/20 i 35/20 °C (dan/noć). Iznad 20 °C, za svaki dodatno povišeni 1 °C, sadržaj suhe tvari se proporcionalno smanjivao u svakoj biljci za 55 mg. Svojim istraživanjem potvrdili su i dotadašnja, gdje je također utvrđivan manji sadržaj suhe tvari pri temperaturnom stresu uzrokovanog visokim, ali i niskim temperaturama, u usporedbi s uzgojem u kontroliranim i optimalnim uvjetima.

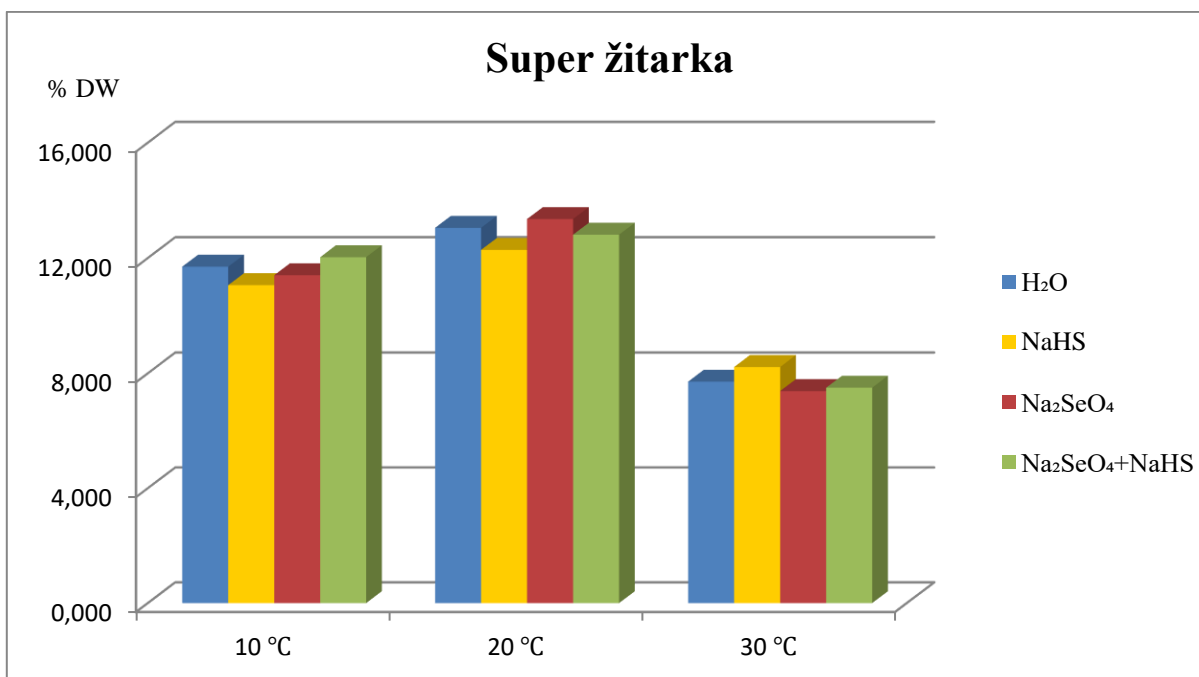


**Grafikon 10.** Utjecaj temperature i varijante primiranja sjemena na sadržaj suhe tvari (%) u lišću pšenične trave kod sorte Katarina.





**Grafikon 11.** Utjecaj temperature i varijante primiranja sjemena na sadržaj suhe tvari (%) u lišću pšenične trave kod sorte Osječka 20.



**Grafikon 12.** Utjecaj temperature i varijante primiranja sjemena na sadržaj suhe tvari (%) u lišću pšenične trave kod sorte Super Žitarka.

## 6. ZAKLJUČAK

U ovom istraživanju je utvrđen značajan utjecaj primijenjene temperature i varijante primiranja sjemena pšenice na sadržaj vitamina C, prolina, suhe tvari te na stupanj lipidne peroksidacije, u lišću pšenične trave.

Kod sorte Katarina najviši sadržaj vitamina C i prolina je utvrđen pri kombinaciji  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  i NaHS. Na stupanj lipidne peroksidacije je najviše utjecala varijanta primiranja s vodom. Kod utvrđivanja sadržaja suhe tvari, varijante primiranja sjemena nisu imale značajan utjecaj. Pri 30 °C je utvrđen značajno niži sadržaj suhe tvari u usporedbi s 10 i 20 °C.

Kod sorte Osječka 20 najviši sadržaj vitamina C je utvrđen u klijancima čije je sjeme primirano vodom. Na stupanj lipidne peroksidacije te na sadržaj prolina i suhe tvari je najviše utjecao tretman s natrijevim hidrogensulfidom.

Kod sorte Super Žitarka, najveći utjecaj na sadržaj vitamina C je imala varijanta primiranja s NaHS. Najviši stupanj lipidne peroksidacije je utvrđen u predstjetvenom tretmanu primiranja vodom, a najviši sadržaj prolina u kombinaciji  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  i NaHS. Varijante primiranja sjemena nisu značajno utjecale na sadržaj suhe tvari koji je bio značajno niži pri 30 °C.

S obzirom na navedene podatke, dokazano je zaštitno djelovanje sumpora i selena na biljke izložene temperaturnom stresu jer utječu na sintezu zaštitnih molekula i signalnih komponenti u biljnom metabolizmu.

## 7. POPIS LITERATURE

1. Abrol, Y., Ahmad, A. (2003). Sulphur in Plants. *Kluwer Academic Publishers*. 387.
2. Ahmad, R., Waraich, E.A., Nawaz, F., Ashraf, M.Y. (2016). Selenium (Se) improves drought tolerance in crop plants-myth or fact? *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 96, 372-380.
3. Ali, Q., Ashraf, M., Athar, H.U.R. (2010). Exogenously applied proline at different growth stages enhances growth of two maize cultivars grown under water deficit conditions. *Pakistan Journal of Botany*. 39:1133-44.
4. Barberon, M., Berthomieu, P., Clairotte, M., Shibagaki, N., Davidian, J., Gosti, F. (2008). Unequal functional redundancy between the two *Arabidopsis thaliana* high-affinity sulphate transporters SULTR 1;1 and SULTR 1;2. *New Phytologist*. 180: 608-619.
5. Boldrin, F., Figueiredo, M., Yang, Y., Luo, H., Giri, S., Hart, J.J., Faquin, V., Guilherme, L., Thannhauser, T.W., Li, L. (2016). Selenium promotes sulphur accumulation and plant growth in wheat (*Triticum aestivum*). *Scandinavian Plant Physiology Society*. 158(1): 80-91.
6. Chu, J., Yao, X., Zhang, Z. (2009). Responses of wheat seedlings to exogenous selenium supply under cold stress. *Biological Trace Element Research*. 136: 355-363.
7. De Kok, L.J., Stuvier, C.E., Rubbing, M., Westerman, S., Grill, D. (1997). Impact of atmospheric sulphur deposition on sulphur source for sulphur deprived *Brassica oleracea* L. *Acta Botanica*. 110: 411-419.
8. Fodor, J., Gullner, G., Adam, A.L., Barna, B., Komives, T., Kiraly, Z. (1997). Local and systemic responses of antioxidants to tobacco mosaic virus infection and to salicylic acid in tobacco. Role in systemic acquired resistance. *Plant Physiology*. 114: 1443-1451.
9. Foyer, C., Rennenberg, H. (2000). Regulation of glutathione synthesis and its role in abiotic and biotic stress defence. Sulphur Nutrition and Sulphur Assimilation in Higher Plants, pp 127-153. *Paul Haupt*, Bern.

10. Gill, S.S., Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48: 909-930.
11. Grant, K., Carey, N.M., Mendoza, M., Schulze, J., Pilon, M., Pilon-Smits, E.A.H., Van Hoewyk, D. (2011). Adenosine 5-phosphosulphate reductase (APR2) mutation in *Arabidopsis* implicates glutathione deficiency in selenate toxicity. *Biochemical Journal*. 438: 325-335.
12. Gibson, L.R., Paulsen, G.M. (1999). Components of wheat grown under high temperature stress during reproductive growth. *Crop Ecology, Production & Management*. 39(6): 1841-1846.
13. Gupta, M., Gupta, S. (2017). An overview of selenium uptake, metabolism and toxicity in plants. *Frontiers in Plant Science*. 7: 2074.
14. Harris, J., Schneberg, K.A., Pilon-Smits, E.A.H. (2014). Sulphur-selenium-molybdenum interactions distinguish selenium hyperaccumulator *Stanleya pinnata* from non-accumulator *Brassica juncea* (Brassicaceae). *Planta*. 239: 479-491.
15. Hayat, S., Hayat, Q., Alyermeni, M.N., Wani, A.S., Pitchel, J., Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments. *Plant Signaling&Behavior*. 7(11): 1456-1466.
16. Hodges, M.D., Andrews, C.J., Johnson, D.A., Hamilton, R.I. (1996). Antioxidant compound responses to chilling stress in differentially sensitive inbred maize lines. *Plant Physiology*. 98: 685-692.
17. Hondal, R.J., Marino, S.M., Gladyshev, V.N. (2013). Selenocysteine in thiol/disulphide-like exchange reactions. *Antioxidants & Redox Signaling*. 18(13): 1675-1689.
18. Hugovieux, V., Dutilleul, C., Jourdain, A., Reynaud, F., Lopez, V., Bourguignon, J. (2009) Arabidopsis Putative Selenium-binding Protein1 Expression Is Tightly Linked To Cellular Sulphur Demand and Can Reduce Sensitivity to Stresses Requiring Glutathione for Tolerance. *Plant physiology*. 151(2): 768–781.
19. Lara, T.S., Lessa, J.H., Souza, K.R.D., Corguinha, A.P.B., Martins, F.A.D., Lopes, G., Guilherme, L.R.G. (2019). Selenium biofortification of wheat grain via foliar application and its effect on plant metabolism. *Journal of Food and Analysis*. 81: 10-18.

20. Labanowska, M., Filek, M., Koscielniak, J., Kurdziel, M., Kulis, E., Hartikainen, H. (2011). The effects of short-term selenium stress on Polish and Finnish wheat seedlings- EPR, enzymatic and fluorescence studies. *Journal of Plant Physiology*. Vol.169 275-284.
21. Lyons, G.H., Judson, G.J., Ortiz-Monasterio, I., Yusuf, G., Stangoulis, J.C.R., Graham, R.D. (2005). Selenium in Australia: Selenium status and biofortification of wheat for better health. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 19(1), 75-82.
22. McKersie, B.D., Leshem, Y.Y. (1994). Stress and stress coping in cultivated plants. *Kluwer Academic Publishers*. Dordrecht (pp. 15-54).
23. Mujoriya, R. & Bodla, R.B. (2011). A study on wheat grass and its Nutritional value. *Food Science and Quality Management*. 2,1-8.
24. Nieto-Sotelo, J., Tuan-Hua, D.H. (1986). Effect of heat shock on the metabolism of glutathione in maize roots. *Plant Physiology*. 82: 1031-1035
25. Noctor, G., Foyer, C. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 49:249-279.
26. Paciolla, C., Fortunato, S., Dipierro, N., Paradiso, A., De Leonardis, S., Mastropasqua, L., Concetta de Pinto, M. (2019). Vitamin C in Plants: From Functions to Biofortification. Review. *Antioxidants*. 8(11), 519.
27. Packer, L. (1995). Biothiols. Part A Monothioles and Dithioles, Protein Thiols and Thiyl Radicals. *Methods in Enzymology*. Vol 251. *Academic Press*, San Diego. 529.
28. Padalia, S., Drabu, S., Raheja, I., Gupta, A., Dhamija, M. (2010). Multitude potential of wheatgrass juice (Green blood): An overview. *Chronicles of young scientists*, 1(2), 23.
29. Pezzarossa, B., Piccotino, D., Shennan, C., Malorgio, F. (1999). Uptake and Distribution of Selenium in Tomato Plants as Affected by Genotype and Sulphate Supply. *Journal of Plant Nutrition*. 22 (10), 1613-1635.
30. Pilon-Smits, E.A.H., De Souza, M.P., Hong, G., Amini, A., Bravo, R.C., Payabyab, S.B., Terry, N. (1999). Selenium volatilization and accumulation by twenty aquatic plant species. *Journal of Environmental Quality*. 28: 1011-1018.
31. Pilon-Smits, E., Winkel, L., Lin, Z.Q. (2017). Selenium in plants. *Springer International Publishing*. Vol 11. 324.

32. Sors, T.G., Ellis, D.R. (2005). Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis Research*. 86: 373-389.
33. Tamaoki, M., Freeman, J.L., Pilon-Smits, E.A.H. (2008). Cooperative Ethylene and Jasmonic Acid Signaling Regulates Selenite Resistance in *Arabidopsis*. University of Tsukuba, Ibaraki. 305-8577.
34. Dr.sc.Tihana Teklić (2012). Skripta-Fiziologija bilja u povrćarstvu i cvjećarstvu. Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
35. Vukadinović, V., Vukadinović, V. (2011). Ishrana bilja. Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku. 453.
36. Wang, Z., Xiao, Y., Chen, W., Tang, K., Zhang, L. (2010). Increased vitamin C content accompanied by an enhanced recycling pathway confers oxidative stress tolerance in *Arabidopsis*. *Journal of Integrative Plant Biology*. 52 (4): 400-409.
37. White, P.J., Bowen, H.C., Parmaguru, P., Fritz, M., Spracklen, W.P., Spiby, R.E., Meacham, M.C., Mead, M., Harriman, M., Trueman, L.J., Smith, B.M., Thomas, B., Broadley, M.R. (2004). Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 55, No. 404
38. Yarmolinski, D., Brychkova, G., Fluhr, R., Sagi, M. (2012). Sulphite reductase protects plants against sulphite toxicity. *Plant Physiology*. 161: 725-743.
39. Yuan, L., Zhang, R., Ma, X., Yang, L., Zhang, Q., Chen, D., Li, M., Ting, F., Liu, Y., Pan, L., Yin, X. (2018). Selenium accumulation, antioxidant enzyme levels, and aminoacids composition in Chinese Mitten Crab Fed Selenium-Biofortified Corn. *Licensee MDPI*. 10,318.

## 8. SAŽETAK

Sumpor i selen imaju važnu fiziološku ulogu u biljnom metabolizmu te kod mnogih bioloških spojeva, poput npr. aminokiselina, zbog svoje kemijske sličnosti, jedan element može zamijeniti drugi. Tretiranje sjemena pšenice spojevima koji sadrže sumpor ili selen može poboljšati otpornost biljke na različite stresne uvjete okoline. Cilj istraživanja je bio utvrditi utjecaj primiranja sjemena otopinama NaHS, Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>+NaHS na fiziološka svojstva kod tri sorte pšenične trave uzgajane pri 10, 20 i 30 °C. Ispitivan je sadržaj vitamina C, prolina, udio suhe tvari i stupanj lipidne peroksidacije. Kod sorte Katarina na sadržaj vitamina C i prolina najznačajnije je utjecao tretman sjemena kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i NaHS. Najviša razina lipidne peroksidacije je utvrđena kod kontrolnih biljaka čije sjeme je primirano vodom i naklijavano pri 20 °C. U usporedbi s 10 i 20 °C, pri 30 °C je utvrđen značajno niži sadržaj suhe tvari. Pri 10 °C je utvrđen značajno veći sadržaj vitamina C kod sve tri sorte pšenične trave. Utvrđene su značajne razlike u odgovoru na pojedine varijante tretmana što upućuje na to da postoji genetska specifičnost u fiziološkom odgovoru na selen, sumporovodik i temperature uzgoja pšenične trave.

## 9. SUMMARY

Sulphur and selenium have an important physiological role in plant metabolism and in many biological compounds, for example aminoacids, because of the similarity in their chemical structure, one element can replace the other. Treating wheat seeds with compounds that contain sulphur or selenium can improve the plants resistance to a wide range of stressful environmental conditions. The goal of this research was to determine the effect of seed priming with compounds NaHS, Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> and Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>+NaHS on the physiological properties on three cultivars of wheatgrass grown at 10, 20 i 30 °C. The content of vitamin C, proline, dry matter and the degree of lipid peroxidation was analyzed. Cultivar Katarina showed the greatest effect of the combination of Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> and NaHS on vitamin C and proline content. The highest degree of lipid peroxidation was determined in the control plants whose seeds were primed in water and sprouted at 20 °C. In comparison to 10 and 20 °C, the highest applied temperature (30 °C) resulted with a significantly lower dry matter content. At 10 °C, a significantly higher content of vitamin C was determined in all three cultivars. Significant differences in response to individual treatment variants were determined, which indicates a genetic specificity in the physiological response to selenium, hydrogen sulfide and the growing temperature of wheat grass.



## 10. POPIS TABLICA

**Tablica 1.** Sadržaj vitamina C (mg vitamin C/100 g svježe tvari) kod tri sorte pšenične trave (Katarina, Osječka 20, Super Žitarka), ovisno o predsjetvenom tretmanu sjemena ( $H_2O$ , NaHS,  $Na_2SeO_4$  i  $Na_2SeO_4+NaHS$ ) te uzgoju pri 10, 20 i 30 °C. (Stranica 21)

**Tablica 2.** Stupanj lipidne peroksidacije (TBARS) (nmol/g svježe tvari), kod tri sorte pšenične trave (Katarina, Osječka 20, Super Žitarka), ovisno o predsjetvenom tretmanu sjemena ( $H_2O$ , NaHS,  $Na_2SeO_4$  i  $Na_2SeO_4+NaHS$ ) te uzgoju pri 10, 20 i 30 °C. (Stranica 23)

**Tablica 3.** Sadržaj prolina ( $\mu\text{mol/g}$  svježe tvari) kod tri sorte pšenične trave (Katarina, Osječka 20, Super Žitarka), ovisno o predsjetvenom tretmanu sjemena ( $H_2O$ , NaHS,  $Na_2SeO_4$  i  $Na_2SeO_4+NaHS$ ) te uzgoju pri 10, 20 i 30 °C. (Stranica 25)

**Tablica 4.** Sadržaj suhe tvari (%) kod tri sorte pšenične trave (Katarina, Osječka 20, Super Žitarka), ovisno o predsjetvenom tretmanu sjemena ( $H_2O$ , NaHS,  $Na_2SeO_4$  i  $Na_2SeO_4+NaHS$ ) te uzgoju pri 10, 20 i 30 °C. (Stranica 27)

## 11. POPIS SLIKA

**Slika 1.** Koncentracija selena u pšenici koja je uzgajana na dvije lokacije u Južnoj Australiji, 2002. Selen je dodan kao natrijev selenat u tlo ili folijarno nakon cvatnje. Pokus je izveden u četiri ponavljanja. (Izvor: Lyons i sur., 2005.) (Stranica 6)

**Slika 2.** Povećana aktivnost enzima askorbat peroksidaze (APX) ovisne o količini apliciranog selena (Izvor: Lara i sur., 2019.) (Stranica 7)

**Slika 3.** Shematski prikaz asimilacije selena u mezofilnim biljnim stanicama. Crveni tekst i strelice ukazuju na procese hiperakumulacije Se. Sultr sulfat/selenat transporteri, adenzin fosfoselenat (APSe), GSH glutation, serin acetiltransferaza(SAT), O-acetilserin (OAS), selenocistein (SeCys), O-fosfohomoserin (OPH), selenometionin (SeMet), metilmationin metiltransferaza(MMT), dimetilselenopropionat (DMSeP), dimetildiselenid (DMDSe), selenocistein metiltransferaza (SMT). (Izvor: Pilon-Smits i sur.,2017.) (Stranica 9)

**Slika 4.** Sadržaj MDA u svježoj tvari pšenice pri različitim Se tretmanima. (Izvor: Chu i sur., 2009.) (Stranica 11)

**Slika 5.** Sadržaj prolina u svježoj tvari pšenice pri različitim Se tretmanima. (Izvor: Chu i sur., 2009.) (Stranica 11)

**Slika 6.** Metabolizam sumporovodika u biljkama (Izvor: Abrol i Ahmad, 2003.) (Stranica 15)

**Slika 7.** Imbibicija sjemena pšenice s  $dH_2O$ ,  $Na_2SeO_4$ ,  $NaHS$  i  $Na_2SeO_4 + NaHS$ . (Stranica 16)

**Slika 8.** Pšenična trava u klima komori tijekom trećeg seta pokusa; nakon promjene temperature na 30 °C. (Stranica 17)

**Slika 9.** Ekstrakcija prolina pomoću toluena. (Stranica 19)

## 12. POPIS GRAFIKONA

**Grafikon 1.** Utjecaj temperature i varijante osmoprimiranja sjemena na sadržaj vitamina C (mg/100g FW) u lišću pšenične trave sorte sorte Katarina. (Stranica 29)

**Grafikon 2.** Utjecaj temperature i varijante osmoprimiranja sjemena na sadržaj vitamina C (mg/100g FW) u lišću pšenične trave sorte sorte Osječka 20. (Stranica 30)

**Grafikon 3.** Utjecaj temperature i varijante osmoprimiranja sjemena na sadržaj vitamina C (mg/100g FW) u lišću pšenične trave sorte Super žitarka. (Stranica 30)

**Grafikon 4.** Utjecaj temperature i varijante osmoprimiranja sjemena na stupanj lipidne peroksidacije (nmol/kg FW) u lišću pšenične trave kod sorte Katarina. (Stranica 31)

**Grafikon 5.** Utjecaj temperature i varijante osmoprimiranja sjemena na stupanj lipidne peroksidacije (nmol/kg FW) u lišću pšenične trave kod sorte Osječka 20. (Stranica 32)

**Grafikon 6.** Utjecaj temperature i varijante osmoprimiranja sjemena na stupanj lipidne peroksidacije (nmol/kg FW) u lišću pšenične trave kod sorte Super žitarka. (Stranica 32)

**Grafikon 7.** Utjecaj temperature i varijante osmoprimiranja sjemena na sadržaj prolina ( $\mu\text{mol/g}$  FW) u lišću pšenične trave kod sorte Katarina. (Stranica 33)

**Grafikon 8.** Utjecaj temperature i varijante osmoprimiranja sjemena na sadržaj prolina ( $\mu\text{mol/g}$  FW) u lišću pšenične trave kod sorte Osječka 20. (Stranica 34)

**Grafikon 9.** Utjecaj temperature i varijante osmoprimiranja sjemena na sadržaj prolina ( $\mu\text{mol/g}$  FW) u lišću pšenične trave kod sorte Super žitarka. (Stranica 34)

**Grafikon 10.** Utjecaj temperature i varijante osmoprimiranja sjemena na sadržaj suhe tvari (%) u lišću pšenične trave kod sorte Katarina. (Stranica 35)

**Grafikon 11.** Utjecaj temperature i varijante osmoprimiranja sjemena na sadržaj suhe tvari (%) u lišću pšenične trave kod sorte Osječka 20. (Stranica 36)

**Grafikon 12.** Utjecaj temperature i varijante osmoprimiranja sjemena na sadržaj suhe tvari (%) u lišću pšenične trave kod sorte Super žitarka. (Stranica 36)

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek  
Diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

ZAŠTITNA ULOGA SUMPOROVODIKA I SELENA KOD PŠENIČNE TRAVE U UVJETIMA  
TEMPERATURNOG STRESA

Gabrijela Rebeka Stanković

**Sažetak:**

Sumpor i selen imaju važnu fiziološku ulogu u biljnom metabolizmu te kod mnogih bioloških spojeva, poput npr. aminokiselina, zbog svoje kemijske sličnosti, jedan element može zamijeniti drugi. Tretiranje sjemena pšenice spojevima koji sadrže sumpor ili selen može poboljšati otpornost biljke na različite stresne uvjete okoline. Cilj istraživanja je bio utvrditi utjecaj primiranja sjemena otopinama NaHS, Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>+NaHS na fiziološka svojstva kod tri sorte pšenične trave uzgajane pri 10, 20 i 30 °C. Ispitivan je sadržaj vitamina C, prolina, udio suhe tvari i stupanj lipidne peroksidacije. Kod sorte Katarina na sadržaj vitamina C i prolina najznačajnije je utjecao tretman sjemena kombinacijom Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> i NaHS. Najviša razina lipidne peroksidacije je utvrđena kod kontrolnih biljaka čije sjeme je primirano u vodi i naklijavano pri 20 °C. U usporedbi s 10 i 20 °C, pri 30 °C je utvrđen značajno niži sadržaj suhe tvari. Pri 10 °C je utvrđen značajno veći sadržaj vitamina C kod sve tri sorte pšenične trave. Utvrđene su značajne razlike u odgovoru na pojedine varijante tretmana što upućuje na to da postoji genetska specifičnost u fiziološkom odgovoru na selen, sumporovodik i temperature uzgoja pšenične trave.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** izv.prof.dr.sc. Miroslav Lisjak

**Broj stranica:** 46

**Broj slika i grafikona:** 21

**Broj tablica:** 4

**Broj literaturnih navoda:** 39

**Broj priloga:** 0

**Jezik izvornika:** Hrvatski

**Ključne riječi:** prolin, pšenična trava, selen, sumpor, TBARS, temperaturni stres, vitamin C

**Datum obrane:** 28.10.2020.

**Stručno povjerenstvo za obranu**

**1. prof.dr.sc. Tihana Teklić, predsjednik**

**2. izv.prof.dr.sc. Miroslav Lisjak, mentor**

**3. izv.prof.dr.sc. Andrijana Rebekić, član**

**Rad je pohranjen u:** Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate thesis

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek**  
**University Graduate Studies, course Vegetable and flower growing**

### PROTECTIVE ROLE OF HYDROGEN SULPHIDE AND SELENIUM ON WHEAT GRASS UNDER TEMPERATURE STRESS CONDITIONS

Gabrijela Rebeka Stanković

#### **Abstract:**

Sulphur and selenium have an important physiological role in plant metabolism and in many biological compounds, for example aminoacids, because of the similarity in their chemical structure, one element can replace the other. Treating wheat seeds with compounds that contain sulphur or selenium can improve the plants resistance to a wide range of stressful environmental conditions. The goal of this research was to determine the effect of seed priming with compounds NaHS, Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> and Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>+NaHS on the physiological properties on three cultivars of wheatgrass grown at 10, 20 i 30 °C. The content of vitamin C, proline, dry matter and the degree of lipid peroxidation was analyzed. Cultivar Katarina showed the greatest effect of the combination of Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> and NaHS on vitamin C and proline content. The highest degree of lipid peroxidation was determined in the control plants whose seeds were primed in water and sprouted at 20 °C. In comparison to 10 and 20 °C, the highest applied temperature (30 °C) resulted with a significantly lower dry matter content. At 10 °C, a significantly higher content of vitamin C was determined in all three cultivars. Significant differences in response to individual treatment variants were determined, which indicates a genetic specificity in the physiological response to selenium, hydrogen sulfide and the growing temperature of wheat grass.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** PhD Miroslav Lisjak, assistant professor

**Number of pages:** 46

**Number of figures:** 21

**Number of tables:** 4

**Number of references:** 39

**Number of appendices:** 0

**Original in:** Croatian

**Key words:** proline, selenium, sulphur, TBARS, temperature stress, vitamin C, wheat grass

**Thesis defended on date:** 28<sup>th</sup> of October 2020

#### **Reviewers:**

- 1. Tihana Teklić, PhD, full professor**
- 2. Miroslav Lisjak, PhD, associate professor**
- 3. Andrijana Rebekić, PhD, associate professor**

**Thesis deposited at:** Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer, Vladimira Preloga 1.